

Ana Luísa Dionísio Martins Roque

Dispositivos Moleculares com base em Sistemas Fotocrómicos

Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Química,
especialidade de Química-Física, pela Universidade Nova de Lisboa,
Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Lisboa
2001

«copyright»

Agradecimentos:

Gostaria de deixar aqui expresso o meu agradecimento a todos aqueles que contribuíram para a realização do trabalho envolvido nesta tese.

Ao meu orientador, Prof. Fernando Pina, por me ter dado a conhecer as moléculas fantásticas que são os flavílios. Por tudo o que me ensinou. Pela garra e paixão pela ciência que transmite. Pela admirável honestidade. Pela sua preocupação a nível humano com aqueles que o rodeiam.

Ao Prof. Vincenzo Balzani, ao Prof. Mauro Maestri e ao Prof. Roberto Ballardini pela colaboração e discussões relacionadas com os artigos publicados.

Ao grupo de fotoquímica da FCT-UNL, que desde o primeiro momento me acolheu de braços abertos. Ao Jorge Parola pela paciência e disponibilidade sempre presente para esclarecer dúvidas e dar conselhos, muitas vezes preciosos, especialmente na área da síntese. Também porque foi ele a ensinar-me logo nos primeiros dias a fazer espectros de RMN, com os quais nunca mais deixei de trabalhar. À M^a João que foi a pessoa que, ainda no meu 4^o ano de licenciatura na cadeira de fotoquímica, me cativou para esta área onde acabei por estagiar e mais tarde desenvolver o trabalho de doutoramento. Pela sua paixão contagiante pela ciência e também pela renhida luta entre as «suas» antocianinas naturais e os «meus» flavílios sintéticos pelas cores mais bonitas. À Xana que apesar de não estar directamente ligada ao meu trabalho foi sempre uma fonte inesgotável de informação tanto ao início a nível de funcionamento de aparelhos, como a nível de toda a burocracia e papéis que acabam sempre por ser necessários. Ao Carlos Lodeiro pelo companheirismo em laboratório e pela forma prestável com que se mostrou disponível sempre. À Margarida Moncada pela alegria no trabalho e optimismo contagiante. Ao João Carlos Lima que há pouco tempo entrou para este grupo, mas que já antes me tinha ajudado em diversas experiências não relacionados com o trabalho da tese. Pela forma com que sempre se

mostrou disponível para ouvir as minhas ideias, mesmo as mais loucas, muitas vezes em longuíssimas discussões. Ao Sérgio, ao André e à Sara que comigo partilharam o gabinete nestes últimos anos, obviamente pelo companheirismo em laboratório, mas também pela simpatia com que encheram as minhas pausas com conversas sobre gatos, barcos e não só. Especialmente à Sara, minha companheira dos almoços muitas vezes fora de horas para não interromper experiências. A todas as pessoas do grupo quero agradecer principalmente, para além de tudo o resto, a amizade que me dedicaram e que eu muito prezo.

Ao Departamento de Química e ao Centro de Química Fina e Biotecnologia da FCT – UNL pela disponibilização dos equipamentos usados para as experiências desta tese. À M^a do Rosário, pela prontidão com que fez todos aqueles RMNs que eu precisava e para os quais não tinha tempo.

Ao pessoal não docente da FCT-UNL, especialmente à M^a José, ao Sr. Marques e ao Sr. José Carlos, a boa-vontade com que assistiram aos mais diversos assuntos necessários ao bom funcionamento do laboratório.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia a bolsa de doutoramento BD/13330/97 que me concedeu, permitindo-me realizar o trabalho presente nesta tese.

Por fim, por motivos que vão além do trabalho não sendo por isso menos importantes, quero agradecer aos meus pais, ao meu irmão Jorge e ao Miguel que estão sempre comigo...

Resumo:

Os estudos levados a cabo ao longo desta tese têm por objectivo uma caracterização global da família dos sais de flavílio sintéticos.

No Capítulo 1 são apresentados três métodos gerais de síntese de sais de flavílio baseados na condensação de fenóis com β -dicetonas, na condensação de acetofenonas com 2-hidroxibenzaldeídos e na condensação de cumarinas com benzenos substituídos. São ainda descritas pormenorizadamente as sínteses que permitiram aceder aos sais de flavílio estudados ao longo desta tese.

No Capítulo 2 são estudados flavílios substituídos com um grupo metilo na posição 4, determinadas constantes de acidez e identificadas as espécies presentes em equilíbrio. É analisado o efeito desta substituição nas transformações estruturais apresentadas por estes flavílios em solução aquosa.

No Capítulo 3 são estudados os equilíbrios em solução aquosa apresentados por flavílios com um grupo metilo substituído na posição 3 e quando possível determinadas as constantes termodinâmicas e cinéticas associadas às várias transformações estruturais. É também avaliado o efeito desta substituição nas transformações estruturais apresentadas por estes flavílios em solução aquosa.

No Capítulo 4 são estudados os equilíbrios em solução aquosa apresentados por sais de flavílio substituídos no anel B e determinadas as constantes termodinâmicas e cinéticas associadas às várias transformações estruturais. É estudada a barreira cinética associada à isomerização destes compostos e de que modo esta pode ser ultrapassada fotoquimicamente. Por fim são delineados modelos de dispositivos de memória óptica a nível molecular com base em ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, que permitem construir sistemas de armazenamento de informação múltiplos e com capacidade de leitura não destrutiva.

No Capítulo 5 são estudadas as transformações estruturais apresentadas por sais de flavílio substituídos com um grupo hidroxilo na posição 6 ou 7 do anel A e analisado o efeito desta substituição nessas mesmas transformações. É ainda analisado o comportamento fotoquímico destes compostos.

No Capítulo 6 é estudado o efeito da substituição em diferentes posições na barreira de isomerização e discutidas as razões que estão por trás de um aumento ou decréscimo da sua intensidade. É correlacionada, através de um modelo simples, a intensidade da barreira de isomerização com os desvios químicos em ^1H RMN dos prótons 3',5' e 6,8 na chalcona *trans*. Este modelo é aplicado à previsão da barreira de isomerização de dez sais de flavílio com diferentes substituições.

No Capítulo 7 é estudado efeito de micelas carregadas positivamente, negativamente ou neutras nos equilíbrios apresentados por vários flavílios sintéticos. Face aos resultados, é ainda proposto o uso de adição de micelas como um novo estímulo quer na construção de ciclos alternativos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, quer na execução de funções lógicas.

No Capítulo 8 são estudados sais de flavílio contendo uma unidade catecol na presença de um excesso de alumínio (III). São determinadas as constantes de complexação do Al (III) pela base quinoidal ionizada e a respectiva estequiometria de complexação.

No Capítulo 9 é estudada a copigmentação por formação de par iónico com aniões cloreto, brometo e perclorato e proposta uma metodologia para o cálculo das respectivas constantes de copigmentação.

Abstract:

The aim of this thesis is a general study of the chemistry of synthetic flavylum salts in aqueous solutions.

In Chapter 1 three methods for the synthesis of flavylum salts are presented, based in the condensation of phenols with β -diketones, in the condensation of acetophenones with 2-hydroxybenzaldehydes and in the condensation of coumarines with substituted benzenes. In this chapter the synthesis of the flavylum salts studied during this thesis are also described.

In Chapter 2 flavylum salts with a methyl group substituted in position 4 are studied, their acidity constants are determined and the species present in the equilibrium identified. The effect of this substitution in the structural transformations presented in aqueous solution is analysed.

In Chapter 3 the equilibria in aqueous solution of flavylum salts substituted with a methyl group in position 3 are studied, and the thermodynamic and kinetic constants of the several structural transformations determined. It is also evaluated the effect of this substitution in the structural transformations of these compounds.

In Chapter 4 the equilibria in aqueous solution of flavylum salts substituted in ring B are studied, and the thermodynamic and kinetic constants of the several structural transformations determined. It is studied the kinetic barrier of the *cis-trans* isomerization in these flavyliums and how it can be photochemically overcome. Finally, models of optical memory devices at molecular level based in *write-lock-read-unlock-erase* cycles that allow building multiple storage systems with non-destructive read-out capacity are proposed.

In Chapter 5 the structural transformations of flavylum salts with a hydroxyl group substituted in ring A are studied, and the effect of substitution in different positions analysed. It is also analysed the photochemical behaviour of these compounds.

In Chapter 6 the effect of several substituents in the activation energy of the isomerization barrier is studied. The intensity of the barrier is correlated with the ^1H RMN chemical shifts of protons 3',5' and 6,8 of the *trans* chalcone, through a simple model. This model is applied to predict the isomerization barrier of ten flavylum salts.

In Chapter 7 the effect of positive, negative and neutral micelles in the equilibria of synthetic flavylum salts is studied. It is also proposed the addition of micelles as an additional stimulus to the *write-lock-read-unlock-erase* cycles and in the construction of logic functions.

In Chapter 8 the behaviour of flavylum salts possessing a catechol unit in the presence of aluminium (III) is studied. The complexation constants as well as the stoichiometry of the complexation of Al (III) by the ionised quinoidal base are determined.

In Chapter 9 the ion pair co-pigmentation of flavylum salts with chloride, bromide and perchlorate anions is studied and is proposed a methodology for the calculation of the co-pigmentation constants.

Símbolos e notações:

AH^+	catião flavílio
A	base quinoideal
A^-	base quinoideal ionizada
B	hemicetal
Cc	chalcona <i>cis</i>
Cc^-	chalcona <i>cis</i> ionizada
Ct	chalcona <i>trans</i>
Ct^-	chalcona <i>trans</i> ionizada
K_a	constante de equilíbrio da reacção de desprotonação do catião flavílio a base quinoideal
K_h	constante de equilíbrio da reacção de hidratação do catião flavílio a hemicetal
K_t	constante de equilíbrio da reacção de tautomerização do hemicetal a chalcona <i>cis</i>
K_i	constante de equilíbrio da reacção de isomerização da chalcona <i>cis</i> a chalcona <i>trans</i>
K_{cp}	constante de complexação
K_{cop}	constante de copigmentação
K_a^*	constante de equilíbrio entre o catião flavílio e a base quinoideal no estado excitado
K'_a	constante de equilíbrio entre o catião flavílio e todas as outras espécies
K^{\wedge}_a	constante de pseudo-equilíbrio entre o catião flavílio e todas as outras espécies
K_{ac}	constante de acidez
k_a	constante de velocidade da reacção directa de desprotonação do catião flavílio

k_a	constante de velocidade da reacção inversa de desprotonação do catião flavílio
k_h	constante de velocidade da reacção directa de hidratação do catião flavílio
k_{-h}	constante de velocidade da reacção inversa de hidratação do catião flavílio
k_t	constante de velocidade da reacção directa de tautomerização do hemicetal
k_{-t}	constante de velocidade da reacção inversa de tautomerização do hemicetal
k_i	constante de velocidade da reacção directa de isomerização da chalcona <i>cis</i>
k_{-i}	constante de velocidade da reacção inversa da isomerização da chalcona <i>cis</i>

Abs	absorvância
A_x	absorvância a x nanómetros
C_0	concentração global de todas as espécies envolvidas
Ccf	cromatografia em camada fina
cmc	concentração micelar crítica
COSY	«correlation spectroscopy»
CTAB	brometo de cetiltrimetilamónio
d	duplete
dd	duplete de duplete
ds	duplete de singuleto
δ	desvio químico
ΔG^0	energia livre padrão
ϵ	coeficiente de absortividade molar
$\epsilon_{\text{máx}}$	coeficiente de absortividade molar correspondente ao máximo de absorvância
Φ	rendimento quântico
h	horas
$^1\text{H RMN}$	espectroscopia de ressonância magnética nuclear de protão

hν	incidência de luz / excitação por fotões
HPLC	cromatografia líquida de alta resolução
Hz	Hertz
I₀	intensidade de luz de dado comprimento de onda incidente na amostra
J	constante de acoplamento escalar
K	graus Kelvin
λ	comprimento de onda da radiação electromagnética
λ_{em}	comprimento de onda de emissão
λ_{ex}	comprimento de onda de excitação
λ_{irr}	comprimento de onda de irradiação
$\lambda_{m\acute{a}x}$	comprimento de onda de intensidade máxima de uma dada banda de absorção
min	minutos
m	múltiplo
nm	nanómetros
NOESY	«nuclear Overhauser effect spectroscopy»
p.f.	ponto de fusão
pH	- log[H ⁺]
phen	fenantrolina
pK_a	- log[K _a]
ppm	partes por milhão
R_f	factor de retenção
q	quadruplo
qi	quintuplo
s	segundos
s	singuleto

se	sextupleteo
SDS	dodecil sulfato de sódio
t	tripleteo
T	temperatura
T_{amb}	temperatura ambiente
TPEE	transferência de protão no estado excitado
Triton-X	polioxietileno(10)-isooctilfeniléter
u.a.	unidades arbitrárias
U.V. - Vis.	espectroscopia de Ultravioleta - Visível
χ_i	fracção molar da espécie i
[X]	concentração de uma dada espécie X
[X]₀	concentração inicial de uma dada espécie X

Índice de matérias:

Introdução Geral.....	1
Capítulo 1 – Síntese de sais de flavílio.....	11
1.1-Introdução à síntese de sais de flavílio.....	11
1.2-Descrição das sínteses de sais de flavílio.....	14
1.2.1-Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio.....	14
1.2.2- Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio.....	15
1.2.3-Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio.....	16
1.2.4-Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio.....	17
1.2.5-Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio.....	18
1.2.6-Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio.....	19
1.2.7-Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio.....	20
1.2.8-Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio....	21
1.2.9- Perclorato de 4'-hidroxiflavílio.....	22
1.2.10-Perclorato de 4'-metilflavílio.....	23
1.2.11-Perclorato de 4'-metoxiflavílio.....	24
1.2.12-Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio.....	25
1.2.13-Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio.....	26
1.2.14-Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiflavílio.....	28
1.2.15-Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio.....	29
1.2.16-Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio.....	30
1.2.17-Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio.....	31
1.2.18-Cloreto de 7,8-dihidroxiflavílio.....	32
1.2.19-Perclorato de 3',4'-dihidroxiflavílio.....	33

1.2.20- Perclorato de flavílio, cloreto de 6-hidroxiflavílio, cloreto de 7-hidroxiflavílio e cloreto de 7,4'-dihidroxiflavílio.....	34
Capítulo 2 – Flavílios substituídos na posição 4.....	39
2.1-Introdução	39
2.2-Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio.....	40
2.3-Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio.....	42
2.4-Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio.....	44
2.5-Conclusão.....	47
Capítulo 3 – Flavílios substituídos na posição 3.....	49
3.1-Introdução.....	49
3.2-Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio.....	50
3.2.1-Soluções equilibradas.....	50
3.2.2-Soluções não equilibradas.....	52
3.2.3-Reactividade fotoquímica.....	57
3.2.4-Estrutura cristalina.....	59
3.2.5-Conclusão.....	60
3.3- Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio.....	61
3.3.1-Soluções equilibradas.....	61
3.3.2-Soluções não equilibradas.....	65
3.3.3-Reactividade fotoquímica.....	67
3.3.4-Conclusão.....	69
3.4-Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio.....	70
3.4.1-Soluções equilibradas.....	70
3.4.2-Soluções não equilibradas.....	71
3.4.3-Reactividade fotoquímica.....	76

3.4.4-Conclusão.....	78
3.5- Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio	79
3.5.1-Soluções equilibradas.....	79
3.5.2-Reatividade térmica.....	82
3.5.3-Reatividade fotoquímica.....	83
3.5.4-Conclusão.....	84
3.6- Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio.....	85
3.6.1-Soluções equilibradas.....	85
3.6.2-Soluções não equilibradas.....	86
3.6.3-Reatividade fotoquímica.....	88
3.6.4-Conclusão.....	88
Capítulo 4 – Flavílios substituídos no anel B.....	89
4.1-Introdução.....	89
4.2-Perclorato de flavílio.....	91
4.3-Perclorato de 4'-metoxiflavílio.....	93
4.4-Perclorato de 4'-hidroxiflavílio.....	94
4.4.1-Soluções em meio ácido ou neutro.....	94
4.4.2-Soluções em meio básico.....	99
4.4.3-Reatividade fotoquímica.....	99
4.4.3.1-Irradiação contínua.....	99
4.4.3.2-Fotólise de relâmpago.....	101
4.4.4-Ciclos de <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i>	102
4.5-Perclorato de 4'-metilflavílio.....	105
4.5.1-Soluções em meio ácido ou neutro.....	105
4.5.2-Soluções em meio básico.....	107

4.5.3-Reatividade fotoquímica.....	109
4.5.3.1-Irradiação contínua.....	109
4.5.3.2-Fotólise de relâmpago.....	110
4.5.4-Ciclos de <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i>	110
4.6-Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio	112
4.6.1-Soluções equilibradas.....	112
4.6.1.1-Pseudo-equilíbrio.....	114
4.6.1.2-Equilíbrio final.....	118
4.6.2-Soluções não equilibradas.....	120
4.6.3-Reatividade fotoquímica.....	122
4.6.4-Ciclos de <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i>	122
4.7-Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio.....	124
4.7.1-Soluções em meio ácido ou neutro.....	124
4.7.2-Soluções em meio básico.....	127
4.7.3-Reatividade fotoquímica.....	128
4.7.4-Ciclos de <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i>	129
4.8-Conclusão.....	130
Capítulo 5 – Flavílios substituídos no anel A.....	135
5.1-Introdução.....	135
5.2-Cloreto de 7-hidroxiflavílio.....	135
5.2.1-Determinação da barreira de isomerização <i>cis-trans</i>	136
5.3- Cloreto de 7,4'-dihidroxiflavílio.....	139
5.3.1-Determinação da barreira de isomerização <i>cis-trans</i>	139
5.4-Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio.....	141
5.4.1-Soluções em meio ácido ou neutro.....	141

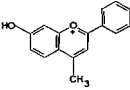
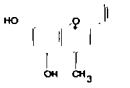
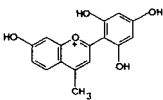
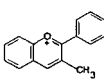
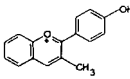
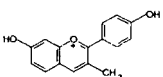
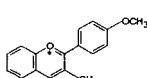
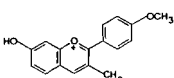
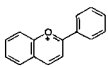
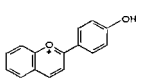
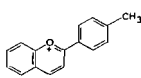
5.4.2-Soluções em meio básico.....	143
5.5-Cloreto de 6-hidroxiflavílio.....	144
5.5.1-Soluções equilibradas.....	144
5.5.2-Soluções não equilibradas.....	146
5.6-Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiflavílio.....	147
5.6.1-Soluções equilibradas.....	147
5.5.2-Soluções não equilibradas.....	149
5.7-Conclusão.....	151
Capítulo 6 – A barreira de isomerização <i>cis-trans</i> e os substituintes.....	155
6.1-Introdução.....	155
6.2-Barreira de isomerização <i>cis-trans</i>	156
6.2.1-Benzalacetofenona.....	156
6.2.2-Efeito dos substituintes na barreira de isomerização	
<i>cis-trans</i>	159
6.3- ¹ H RMN de chalconas.....	161
6.4-Correlação entre a barreira e os desvios químicos em ¹ H RMN.....	164
Capítulo 7 – Sais de flavílio e micelas em solução aquosa.....	169
7.1-Introdução.....	169
7.2-Efeito de micelas nas transformações estruturais do perclorato	
de 4'-hidroxiflavílio.....	171
7.2.1-Solução aquosa.....	171
7.2.2-Solução contendo micelas.....	172
7.2.2.1-Distribuição das frações molares.....	172
7.2.2.1-Ciclos de <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i> ...176	
7.2.3-Micelas como um novo estímulo.....	179

7.2.4-Conclusão.....	180
7.3-Efeito de micelas nas transformações estruturais do tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio.....	181
7.3.1-Solução aquosa.....	181
7.3.2-Solução contendo micelas.....	183
7.3.2.1-SDS.....	183
7.3.2.2-CTAB.....	188
7.3.2.3-Triton X-100.....	191
7.3.2.4-SDS e CTAB.....	192
7.3.3-Micelas como um novo estímulo.....	194
7.3.4-Conclusão.....	198
7.4-Efeito de micelas nas transformações estruturais do cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio.....	199
7.4.1-Solução aquosa.....	199
7.4.2-Solução contendo micelas.....	200
7.4.3-Micelas como um novo estímulo.....	202
7.4.4-Conclusão.....	205
Capítulo 8 – Complexação de alumínio (III) por sais de flavílio.....	207
8.1-Introdução.....	207
8.2-Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio.....	209
8.2.1-Solução aquosa.....	209
8.2.2-Na presença de Al (III).....	211
8.3-Cloreto de 7,8-dihidroxiflavílio.....	215
8.3.1-Solução aquosa.....	215
8.3.2-Na presença de Al (III).....	219

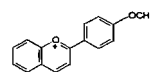
8.4-Perclorato de 3',4'-dihidroxiavílio.....	221
8.4.1-Solução aquosa.....	221
8.4.2-Na presença de Al (III).....	224
8.5-Conclusão.....	227
Capítulo 9 – Copigmentação de um sal de avílio com aniões.....	229
9.1-Introdução.....	229
9.2-Cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio.....	230
9.2.1-Copigmentação com cloreto, brometo e perclorato.....	230
9.2.2-Copigmentação <i>versus</i> protecção da hidratação.....	236
9.3-Conclusão.....	238
Considerações finais.....	239
Parte experimental.....	243
1-Aparelhagem.....	243
1.1. Espectrofotómetro.....	243
1.2. Espectrofluorímetro.....	243
1.3. Potenciómetro.....	243
1.4. Lâmpadas de irradiação e filtros.....	244
1.5. Aparato de fotólise de relâmpago.....	244
1.6. Banho termostaticado.....	245
1.7. Balança.....	245
1.8. Cromatógrafo líquido de alta resolução (HPLC)	245
1.9. Cromatografia em camada fina.....	245
1.10. Espectrómetro de ressonância magnética nuclear.....	246
1.11. Medidor de ponto de fusão.....	246
1.12. Análise elementar.....	246

2-Metodologia.....	247
2.1. Síntese de sais de flavílio.....	247
2.2. Produção de ácido clorídrico <i>in situ</i>	248
2.3. Preparação de soluções.....	249
2.4. Concentrações.....	249
2.5. Titulações espectrofotométricas.....	250
2.6. Saltos de pH.....	251
2.7. Flash fotólise.....	251
2.8. Actinómetros.....	252
2.9. Rendimentos quânticos.....	253
2.10. Soluções com tensioactivos.....	253
2.11. Grau de pureza dos solventes e compostos.....	254
2.12. Ácidos, bases e tampões.....	254
2.13. Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC)	255
Bibliografia.....	257
Apêndice 1 – Espectros de ¹H RMN.....	263
Apêndice 2 – Dedução de Expressões.....	285
Apêndice 3 – Parâmetros Relevantes de Sais de Flavílio Sintéticos.....	293
Publicações a que esta tese deu origem.....	295

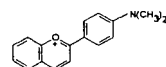
Índice de sais de flavílio:

Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio.....	14, 40, 199	
Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio.....	15, 42	
Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio.....	16, 44	
Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio.....	17, 50	
Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio.....	18, 61	
Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio.....	19, 70	
Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio.....	20, 79	
Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio.....	21, 85	
Perclorato de Flavílio.....	34, 91, 161, 164	
Perclorato de 4'-hidroxiflavílio.....	22, 94, 159, 161, 164, 171	
Perclorato de 4'-metilflavílio.....	23, 105, 161, 164	

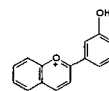
Perclorato de 4'-metoxiflavílio.....24, 93, 161, 164



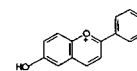
Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio...25, 112, 161, 164



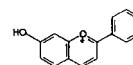
Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio.....26, 124, 161, 164



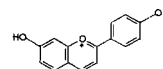
Cloreto de 6-hidroxiflavílio.....34, 144, 161, 164



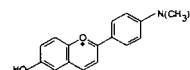
Cloreto de 7-hidroxiflavílio.....34, 135, 159, 161, 164



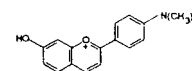
Cloreto de 7,4'-dihidroxiflavílio.....34, 139, 159, 161, 164, 230



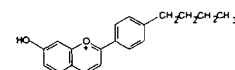
Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiflavílio.....28, 147



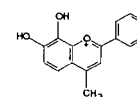
Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio.....29, 141



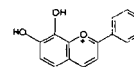
Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio.....30, 181



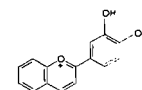
Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio.....31, 209



Cloreto de 7,8-dihidroxiflavílio.....32, 161, 164, 215

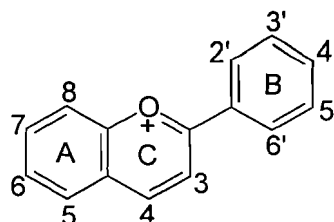


Perclorato de 3',4'-dihidroxiflavílio.....33, 221



Introdução Geral

Mais adiante ver-se-á que na cronologia química a estrutura flavílio sintético precede a sua congénere natural, a antocianina, utilizada pela natureza para colorir flores e frutos com belíssimos vermelhos, roxos e azuis. Apesar das antocianinas sempre terem feito parte da nossa dieta alimentar, de terem sido utilizadas no Império Romano na preparação de pigmentos púrpura^[1] e também em murais na civilização Maia,^[2] o seu isolamento e caracterização apenas teve início com *Richard Willstätter* em 1913. A partir desta data, numa série de notáveis trabalhos, Willstätter conclui que uma mesma antocianina pode ser responsável por todos os matizes do vermelho ao puro azul, sendo a cor vermelha correspondente à forma ácida com o oxigénio carregado positivamente e o número de grupos hidroxilo no anel B responsável pelo deslocar da cor para o azul.^[3] Por fim, em 1915 Willstätter oferece a elucidação da estrutura básica das antocianinas -um núcleo flavílio- ao mesmo tempo que apresenta pela primeira vez conceitos que prevalecem até aos dias de hoje, como é o caso da captura de cores nas plantas através de associações com constituintes do meio intracelular, formando sais com metais alcalinos ou por combinação com outros pigmentos.^[4] Ainda no ano de 1915, Willstätter recebe o Prémio Nobel pela sua investigação em pigmentos de plantas, particularmente na clorofila. Nesta data, já o flavílio sintético tem cerca de 15 anos, pois a primeira síntese deste análogo das antocianinas é descrita por *Carl Bullöw* e *Hermann Wagner* em 1901, em plena época áurea dos corantes na Indústria alemã.^[5]



Esquema 1

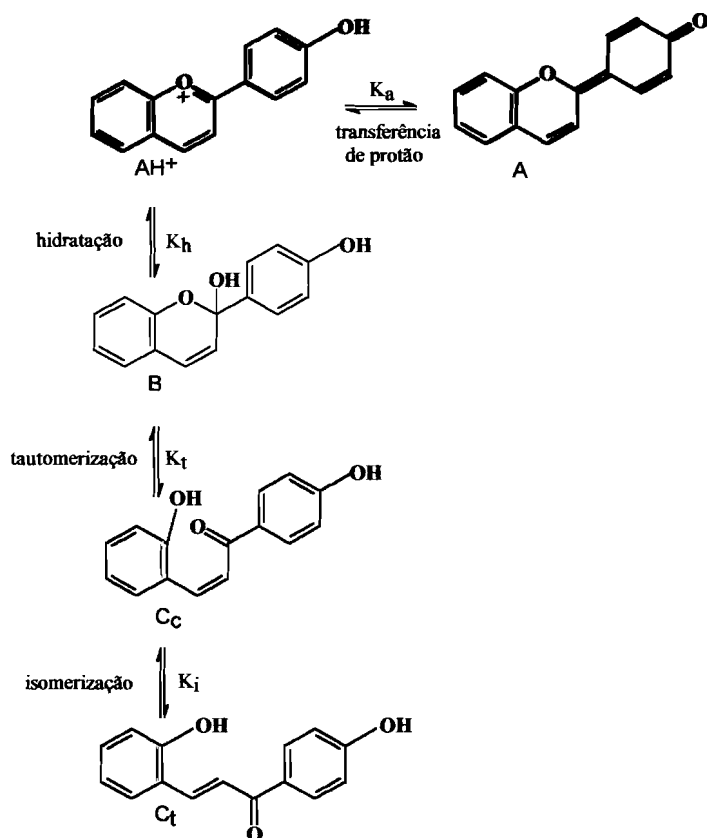
A elucidação da estrutura básica das antocianinas, esquema 1, abriu caminho aos trabalhos de *R. Robinson* e colaboradores, que em 1922 inicia a publicação de uma série de artigos descrevendo de um modo sistemático primeiro a síntese de sais de flavílio do tipo antocianidina (sem açúcares)^[6] e mais tarde, no final dos anos 20, a síntese de antocianinas,^[7] criando uma associação entre antocianinas e sais de flavílio sintéticos que se mantém até aos dias de hoje. *R. Robinson* que começou por justificar os seus trabalhos como via de obtenção de corantes, acabou por dar um grande contributo para o avanço nesta área, tendo-lhe sido atribuído o Prémio Nobel em 1945 pela sua investigação em produtos naturais de interesse, especialmente alcalóides.

O fenómeno das antocianinas descolorarem em meio neutro ou básico já era conhecido mesmo antes da elucidação da sua estrutura, mas as suas causas só começaram a ser investigadas na década de 60 por *L. Iurd*. *Iurd* inicia uma acurada investigação das alterações estruturais de diversos sais de flavílio sintéticos, concluindo que a perda de cor subsequente ao aumento de pH se deve à formação de um hemiacetal por hidratação da base e posteriormente à abertura do anel pirílio que conduz à formação de chalconas.^[8] É também *Iurd* que pela primeira vez chama à atenção para o possível uso destes compostos como corantes alimentares, patenteando o uso de compostos com núcleo flavílio para corar alimentos em meio ácido.^[9] Em 1968, face à restrição do uso de corantes artificiais em alimentos, *Timberlake* e *Bridle*

encetam o estudo dos mecanismos que levam à degradação de antocianinas, particularmente as suas reacções com o dióxido de enxofre (SO₂) usado como conservante na indústria alimentar.^[10] Assim, já no final da década de 60, Timberlake conclui que apesar do dióxido de enxofre descolorar completamente as antocianinas extraídas do morango, não tem praticamente efeito em sais de flavílio substituídos na posição 4, patenteando a síntese e uso destes compostos em produtos alimentares.^[11] Um avanço relevante para a compreensão dos equilíbrios em solução dos sais de flavílio foi conseguido na década de setenta, quando *Brouillard e Dubois* provaram que em meio moderadamente ácido a formação do hemiacetal se dá por hidratação do catião flavílio, e não através da base quinoidal como se acreditava até então.^[12] Mais tarde, na década de 80, *McClelland e Gedge* investigaram as transformações estruturais dos flavílios em meio ácido e neutro, determinando constantes cinéticas e termodinâmicas associadas aos processos de interconversão das várias espécies.^[13]

No esquema 2 estão representadas as transformações estruturais que ocorrem em meio moderadamente ácido num flavílio sintético contendo um substituinte hidroxilo na posição 4'. Nos flavílios, tal como nas antocianinas naturais, o catião flavílio (AH⁺) é a forma mais estável a pH muito ácido. Quando aumenta o pH, o catião flavílio deixa de ser a forma termodinamicamente mais estável, para dar lugar à forma incolor hemiacetal (B). No entanto em termos cinéticos é mais rápido para o catião flavílio transferir um protão do que ser hidratado, pelo que a base quinoidal (A) é imediatamente obtida por perda de protão. Nesta fase, o flavílio que resta em pequena concentração vai sendo hidratado para dar o hemiacetal mais estável, consumindo-se através deste processo também a base quinoidal que se encontra em equilíbrio rápido com o catião flavílio. Por sua vez, o hemiacetal que se forma por hidratação do catião flavílio encontra-se em equilíbrio muito rápido com a *cis*-

chalcona (C_c) obtida por tautomerização. Por fim, através de uma isomerização *cis-trans* que geralmente leva horas, é obtida a *trans*-chalcona (C_t).



Esquema 2

Estas transformações estruturais apresentadas em solução aquosa pelos flavílios sintéticos e pelas antocianinas seguem o mesmo esquema base, no entanto apresentam algumas diferenças elementares que se revelaram muito importantes. Uma destas diferenças, talvez a mais marcante, prende-se com o facto de nos flavílios sintéticos de um modo geral a espécie maioritária ser a *trans*-chalcona e não o hemicetal, ao contrário do que se verifica nas antocianinas mais comuns.

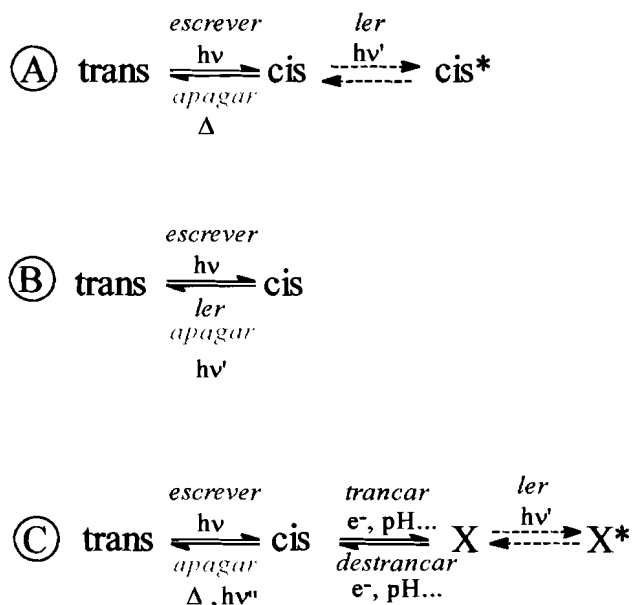
Como se viu, a história dos flavílios sintéticos tem estado sempre ligada à das antocianinas, tendo a semelhança entre as transformações estruturais sofridas por

ambos em solução aquosa levado a que os flavílios sintéticos sejam considerados compostos modelo ideais para o estudo das suas homólogas naturais, bem como sérios candidatos ao uso como corantes alimentares. No entanto, o que à partida parece uma pequena diferença, a existência da espécie maioritária *trans*-chalcona a valores de pH moderadamente ácidos tornou-se a chave das aplicações destes compostos em sistemas de memória ópticos, abrindo novas perspectivas no uso dos flavílios sintéticos.

O uso de compostos fotocromicos, isto é, compostos que possuam espécies inter-convertíveis por acção de luz, como potenciais dispositivos de memória de nível molecular é actualmente um tópico de grande interesse.^[14-17] Em particular são bastante apelativas para este fim moléculas que possuindo uma dupla ligação C=C possam exhibir isomerização *cis-trans* fotoinduzida, como é o caso do célebre *cis*-retinal interveniente no processo da visão e também o das chalconas. No entanto há ainda um grande número de obstáculos a superar até ser possível pensar em aplicações práticas. Um importante problema, que se transformou num dos maiores desafios, é encontrar sistemas de armazenamento de informação múltiplos e com capacidade de leitura não destrutiva, *i.e.* onde o sinal gravado possa ser apagado quando necessário para permitir múltipla gravação e no entanto não seja destruído pela acção de leitura.

Considerando um sistema binário, como o utilizado actualmente nos computadores, uma foto-isomerização do tipo *trans-cis* pode ser pensada como um sistema alternativo onde a formação da espécie *cis* corresponde ao sinal 1 e a sua ausência a 0. Neste caso *escrever* significa irradiar a um comprimento de onda onde a forma *trans* absorva e *ler* corresponde a detectar a espécie *cis*, usando luz de um comprimento de onda onde a forma *cis* absorva. No final é necessário *apagar* o que

se escreveu, de modo a que se possa escrever de novo, fazendo reverter toda a forma *cis* de novo à forma *trans*.



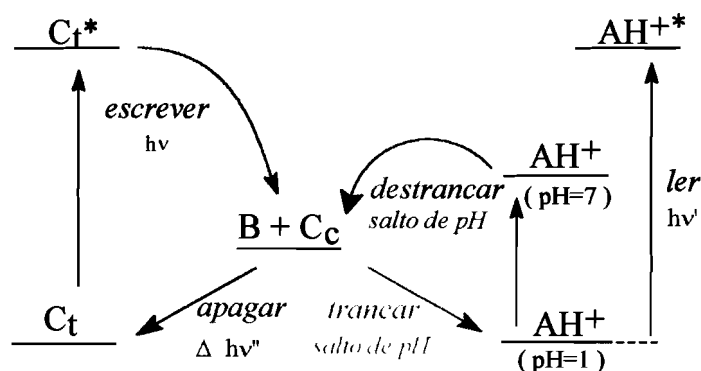
Esquema 3

Este sistema aparentemente adequado, apresenta alguns problemas graves, dado que em muitos casos a espécie *cis* formada, sendo a espécie mais instável termodinamicamente, tenderá a reverter termicamente ao isómero *trans*, conduzindo a uma instabilidade térmica do sinal escrito (esquema 3 A). Este problema torna estes compostos inúteis para armazenamento de informação, uma vez que o sinal escrito se apaga espontaneamente ao fim de algum tempo.

Há alguns casos em que existe uma barreira cinética à isomerização que impede que o isómero *cis* reverte ao *trans* termicamente. Todavia o problema da estabilidade do sinal gravado não fica resolvido, porque nestes casos é comum observar-se uma fotoreactividade da espécie *cis* para dar *trans*^[18, 19] e a leitura óptica da forma *cis* implica a sua irradiação (esquema 3 B). Por outras palavras, a luz usada para ler a informação gravada, apaga gradualmente essa mesma informação.

Uma hipótese para evitar estes problemas é a introdução de um novo estímulo após *escrever*, que converta a espécie *cis* reversível numa outra espécie estável: *trancar*.^[20] Este passo pode ser por exemplo uma transferência de electrões ou de protões envolvendo a forma *cis*, de modo a dar uma nova espécie X, estável térmica e fotoquimicamente, podendo por isso ser opticamente detectada sem problemas. Levando a cabo a reacção inversa de *trancar* - *destrancar* - retorna-se à espécie *cis*, na qual apenas é necessário aquecimento ou luz para *apagar* o sistema (esquema 3 C).

Neste momento torna-se evidente que os flavílios sintéticos são sistemas que verificam precisamente este tipo de química, podendo ser utilizados como base de dispositivos de memória de nível molecular. Em particular é possível definir um sistema capaz de realizar ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* com flavílios sintéticos (esquema 4).^[21-23] Nestes ciclos, o passo *escrever* consiste na fotoisomerização da *trans*-chalcona a *cis*-chalcona, seguida de um passo *trancar* em que por diminuição do pH se obtém o catião flavílio opticamente estável, que se pode *ler* sem destruir. Este processo pode ser revertido por um passo *destrancar* (aumento do pH), seguido de aquecimento ou irradiação para *apagar*. Em determinados casos pode até ser suprimido o passo *trancar*, se o ciclo se iniciar a um pH suficientemente baixo a que a *cis*-chalcona que se forma imediatamente se converta em catião flavílio.



Esquema 4

É no entanto necessário ter em conta que para utilizar os flavílios sintéticos como modelos de memórias ópticas há um pormenor essencial: a existência de uma barreira cinética que impeça a isomerização térmica da *trans*-chalcona a *cis*-chalcona, garantindo a estabilidade térmica do sinal gravado. É interessante notar que a existência dessa barreira cinética essencial depende dos substituintes do flavílio, sendo de um modo geral aumentada por substituintes doadores na posição 4' e diminuída por substituintes doadores na posição 7. Quando esta exigência é satisfeita torna-se possível conceber memórias permanentes ou temporárias e até modelos de redes neuronais.^[21-23] Uma vez superado o obstáculo de conceber um sistema de armazenamento de informação múltiplo e com capacidade de leitura não destrutiva, surgem os novos desafios de obter compostos estáveis que não se degradem ao longo dos ciclos e, talvez a mais problemática, de transpor o sistema para o estado sólido. Por enquanto trabalha-se ao nível da introdução de conceitos e quem sabe, conforme perguntava uma jornalista da revista *New Scientist*,^[24] não se tornará possível criar um futuro colorido para as memórias artificiais.

É na criação de novos conceitos e novas linguagens que possam conduzir a um futuro colorido para as memórias, através da concepção de sistemas moleculares capazes de levar a cabo funções, que se insere o trabalho apresentado nesta tese, ao longo da qual são estudadas diversas famílias de flavílios. As diversas famílias são agrupadas pelas suas características particulares, sendo dado um destaque especial àquela que reúne flavílios capazes de realizar ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, de onde deriva o nome desta tese: Dispositivos moleculares com base em sistemas fotocrómicos.

Por fim, é necessário não esquecer que nem só pelo caminho dos dispositivos moleculares de memória avança a investigação nestas moléculas tão versáteis que são os flavílios. Apesar das actividades anti-inflamatória e de protecção dos capilares sanguíneos por parte das antocianinas serem conhecidas há muito^[25] e estarem até patenteadas,^[26] as propriedades farmacológicas de moléculas com um núcleo flavílio são hoje mais do que nunca investigadas, procurando-se encontrar nelas a resposta para problemas que afectam uma larga parte da população: doenças cardiovasculares^[27] e cancro.^[28] Também nesta área os sais de flavílio sintéticos poderão vir a dar um importante contributo.

Capítulo 1. *Síntese de sais de flavílio.*

1.1. Introdução à síntese de sais de flavílio

A primeira síntese conhecida de sais de flavílio remonta a 1901, tendo sido levada a cabo por Carl Bullöw e Hermann Wagner, no laboratório de química da Universidade de Tübingen.^[5] Numa época em que a indústria alemã se centrava nos corantes e suas aplicações, estes químicos desenvolveram uma síntese simples e eficiente, baseada na condensação de fenóis com β -dicetonas na presença de um fluxo de ácido clorídrico gasoso. Este método de síntese permite aceder a diversos sais de flavílio na sua maioria contendo substituintes alquilo ou arilo na posição 4 do núcleo pirílio. Apesar dos seus 100 anos, o processo sintético desenvolvido por Bullöw é ainda hoje largamente utilizado, principalmente devido à sua simplicidade e aos elevados rendimentos que apresenta.

Em 1913 Willstätter e seus colaboradores iniciaram os primeiros estudos em antocianinas,^[3] concluindo que a estrutura destes pigmentos é derivada de um núcleo de flavílio.^[4] Esta elucidação da estrutura básica das antocianinas abriu caminho aos trabalhos de R. Robinson e colaboradores, que inicialmente os justificou como vias de obtenção de corantes. Em 1922, na sequência de trabalhos anteriores em que abordava a síntese de sais de pirílio, R. Robinson publicou uma série de artigos em que descreve de um modo sistemático a síntese de sais de flavílio do tipo antocianidina^[6] e mais tarde uma outra série dedicada à síntese de antocianinas.^[7] A que hoje é conhecida como síntese clássica de Robinson corresponde à condensação de acetofenonas com 2-hidroxibenzaldeídos na presença de ácido clorídrico e permite aceder a uma enorme variedade de sais de flavílio, consoante o padrão de substituição dos reagentes.

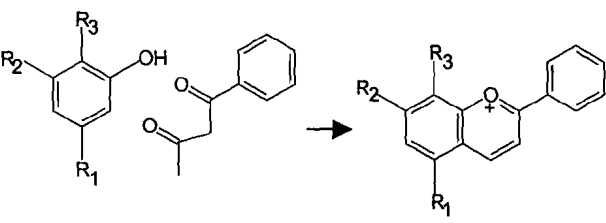
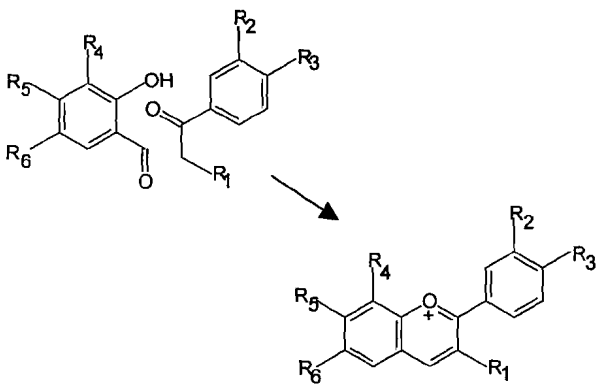
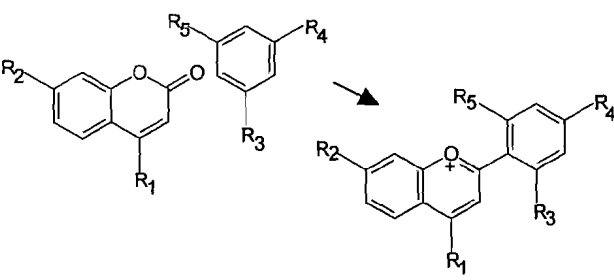
Ainda no início dos anos 20 foi proposta por Willstätter uma outra síntese de sais de flavílio através da reacção de cumarinas com compostos de Grignard.^[29] Este método

foi mais tarde revisto e em 1951 Michaelis e Wizinger apresentam não só a síntese de sais de flavílios a partir da 4-metilcumarina e de benzenos substituídos na presença de ZnCl_2 e POCl_3 , como também regressam à síntese de Robinson sintetizando uma vasta série de sais de flavílio variando o padrão de substituição das acetofenonas.^[30]

Desde os trabalhos pioneiros de Bullöw e Robinson muitos têm sido os métodos apresentados em literatura para a síntese de flavílios, antocianidinas e antocianinas,^[31] sendo muitos deles apenas alterações das condições reacionais ou optimizações das primeiras sínteses publicadas. De entre estes trabalhos é importante realçar o de Johnson e Melhuish que em 1947 propuseram uma síntese nova de sais de flavílio baseada na reacção de fenóis com feniletinilcetonas na presença de ácidos,^[32] e o de Sweeny e Iacobucci que em 1977 publicaram uma síntese de flavílios não baseada em condensação de sintões mas na conversão de precursores flavonóides.^[33]

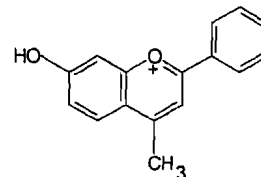
A síntese dos sais de flavílio estudados nesta tese pode ser dividida em três métodos gerais: a condensação de fenóis com β -dicetonas,^[5] a condensação de acetofenonas com 2-hidroxibenzaldeídos^[30,34] e a reacção de cumarinas com benzenos substituídos.^[30] Na tabela 1.1 encontram-se representados cada um destes métodos, bem como os correspondentes sais de flavílio sintetizados. Uma descrição pormenorizada de cada uma das sínteses é posteriormente apresentada em 1.2.

Tabela 1.1

Método Geral	Substituição do Flavílio
<p>Método A</p> <p>Condensação de fenóis com β-dicetonas</p> 	
	<p>$R_1=R_3=H; R_2=OH$</p> <p>$R_1=H; R_2=R_3=OH$</p> <p>$R_1=R_2=OH; R_3=H$</p>
<p>Método B</p> <p>Condensação de acetofenonas com 2-hidroxibenzaldeídos</p> 	
	<p>$R_1=R_2=R_4=R_5=R_6=H; R_3=OH, OMe, Me, NMe_2$</p> <p>$R_1=Me; R_2=R_4=R_5=R_6=H; R_3=H, OH, OMe$</p> <p>$R_1=Me; R_2=R_4=R_6=H; R_5=OH; R_3=OH, OMe$</p> <p>$R_1=R_2=R_4=R_6=H; R_3=NMe_2; R_5=OH$</p> <p>$R_1=R_2=R_4=R_5=H; R_3=NMe_2; R_6=OH$</p> <p>$R_1=R_2=R_4=R_6=H; R_3=Butil; R_5=OH$</p> <p>$R_1=R_4=R_5=R_6=H; R_2=OH; R_3=H, OH$</p> <p>$R_1=R_2=R_3=R_6=H; R_4=R_5=OH$</p>
<p>Método C</p> <p>Reacção de cumarinas com benzenos substituídos</p> 	
	<p>$R_1=Me; R_2=R_3=R_4=R_5=OH$</p>

1.2. Descrição das sínteses de sais de flavílio

1.2.1. Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio^{*}



1.2.1.1. Síntese

Foi borbulhado durante 30 min ácido clorídrico gasoso produzido *in situ* numa solução contendo 3.25g (0.02mol) de benzoílaceta e 1.05ml (0.02mol) de 1,3-dihidroxibenzeno em 12ml de ácido acético glacial (método A). Após este período de tempo precipitou um sólido amarelo escuro. Nesta altura foi interrompido o borbulhar de ácido e foram adicionados 12ml de água fria. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com ácido acético glacial frio e éter etílico. O produto foi então recristalizado de etanol com 40% de ácido clorídrico. Foram obtidos no final 2.01g (37%) de produto, p.f.=222-225°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=416\text{nm}$, $\epsilon_{416\text{nm}}=19875\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 65.13(65.28)%C, 5.34(5.24)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{Cl} \cdot 1.2\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.52 (s, 3H, CH_3), 7.23 (d, 9.24Hz, 1H, H_6), 7.28 (s, 1H, H_8), 7.46 (t, $J=7.40\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.57 (t, $J=7.12\text{Hz}$, 1H, H_4'), 8.07-8.11 (m, 4H, $\text{H}_{2'+6'} + \text{H}_3 + \text{H}_5$).

1.2.1.2. Análise do espectro de ^1H RMN^{*}

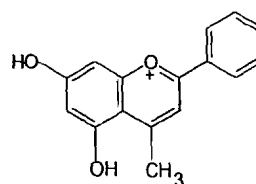
A ressonância devida aos prótons $3'+5'$ a 7.46ppm é facilmente identificada devido à sua intensidade correspondente a 2 prótons magneticamente equivalentes e multiplicidade (triplete) devida ao acoplamento com os prótons $2'+6'$ e $4'$. A ressonância do próton $4'$ a 7.57ppm também é facilmente identificada pela sua multiplicidade devida ao acoplamento

^{*} De modo a permitir uma mais fácil visualização dos compostos estudados, é utilizada sempre ao longo desta tese a nomenclatura «flavílio» e sua respectiva numeração (ver Introdução, esquema 1) em lugar da nomenclatura IUPAC «2-fenilcroménio» e da também vulgarmente utilizada CAS «2-fenilbenzopirílio».

^{*} Os espectros de ^1H RMN analisados encontram-se no Apêndice 1.

deste próton com os prótons 3' e 5'. Os prótons 8 e 6, com ressonâncias a 7.28ppm e 7.23ppm respectivamente, são identificados devido ao acoplamento a longa distância que se verifica entre eles, provocando um desdobramento com uma constante de acoplamento muito pequena das ressonâncias de ambos. Quanto aos restantes prótons 2'+6', 5 e 3, encontram-se num multiplete a 8.07-8.11ppm com intensidade correspondente a 4 prótons. A 2.52ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto devido aos prótons do grupo metilo na posição 4.

1.2.2. Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio



1.2.2.1. Síntese

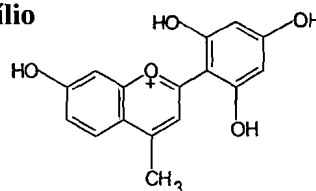
Foi borbulhado durante 45min ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 0.81g (0.005mol) de benzoilacetona e 0.88g (0.005mol) de 1,3,5-trihidroxibenzeno em 6ml de ácido acético glacial (método A). Após este período de tempo precipitou um sólido cor de laranja viva. Nesta altura foi interrompido o borbulhar de ácido e o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com ácido acético glacial frio, etanol frio e éter etílico. Foram obtidos no final 1.15g (79%) de produto, p.f.=235-237°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=379\text{nm}$, $\epsilon_{379\text{nm}}=17960\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 66.38(66.55)%C, 4.89(4.51)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{Cl}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.52 (s, 3H, CH_3), 6.51 (d, 1H, H_6 ou 8), 6.83 (s, 1H, H_8 ou 6), 7.56 (t, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.67 (t, 1H, H_4'), 7.80 (s, 1H, H_3), 8.10 (d, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$).

1.2.2.2. Análise do espectro de ^1H RMN

As ressonâncias devidas aos prótons 3'+5' a 7.56ppm e aos prótons 2'+6' a 8.10ppm são facilmente identificadas pela sua intensidade e multiplicidade. Também a ressonância correspondente ao próton 4' a 7.67ppm é identificada imediatamente devido à sua multiplicidade. As ressonâncias a 6.83ppm e 6.51ppm, correspondentes aos prótons 8

e 6, são identificadas devido ao acoplamento a longa distância entre estes prótons que provoca um pequeno desdobramento das suas ressonâncias. No entanto estes sinais não podem ser inequivocamente atribuídos, uma vez que outras experiências de ^1H RMN não se mostrariam esclarecedoras: por COSY só se prevê uma interacção a longa distância entre eles próprios e em NOESY não se prevê nenhuma interacção espacial destes dois prótons com qualquer outro. A 7.80ppm é detectada a ressonância correspondente ao próton 3 por exclusão. A 2.52ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto correspondente aos prótons do grupo metilo na posição 4.

1.2.3. Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio



1.2.3.1. Síntese

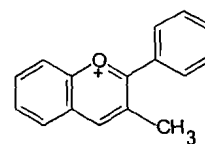
A uma solução contendo 1.75g (0.01mol) de 7-hidroxi-4-metilcumarina em 5ml de tricloreto de óxido de fósforo (POCl_3), aquecida durante 5 min em banho de água, foram adicionados 1.64g de 1,3,5-trihidroxibenzeno (0.013mol) (método C). A mistura reaccional foi aquecida por mais 1h. Após este período de tempo foi arrefecida em gelo. Por adição de ácido perclórico, precipitou um sólido de cor laranja. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com ácido acético glacial frio e éter etílico. Foram obtidos no final 2.23g (58%) de produto, decompõe a 197°C , $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=446\text{nm}$, $\epsilon_{446\text{nm}}=23450\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 2.53 (s, 3H, CH_3), 5.15 (s, 1H, $\text{H}_{3'+5'}$), 6.83 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H, H_8), 7.0 (dd, $J_{6,8}=2.4\text{Hz}$, $J_{6,5}=8.0\text{Hz}$, 1H, H_6), 7.70 (d, 1H, H_5), 7.72 (s, 1H, H_3).

1.2.3.2. Análise do espectro de ^1H RMN

O espectro de ^1H RMN deste composto é muito simples devido à sua elevada substituição. A ressonância devida aos prótons $3'+5'$ a 6.83ppm é identificada pela sua

intensidade (2H) e multiplicidade (singuleto) dado não haver nenhum tipo de acoplamento possível destes com outros prótons. As ressonâncias a 6.83ppm e 7.0ppm, correspondentes aos prótons 8 e 6 respectivamente, são identificadas devido ao acoplamento a longa distância entre estes prótons que provoca um pequeno desdobramento quer do singuleto correspondente ao próton 8, quer do duplete correspondente ao próton 6. A 7.70ppm (d) e 7.72ppm (s) foram identificadas as ressonâncias correspondentes aos prótons 5 e 3 respectivamente, através da sua multiplicidade. A 2.53ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto correspondente aos prótons do grupo metilo na posição 4.

1.2.4. Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio



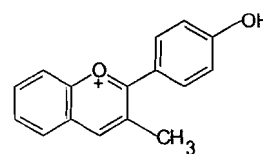
1.2.4.1. Síntese

A uma solução contendo 1.34ml (0.01mol) de 2-metilacetofenona e 1ml (0.01mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 15ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 10ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente e posteriormente 2 dias em repouso. Precipitou um sólido de cor vermelha sob a forma de agulhas. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial e éter etílico. Foram obtidos 1.90g (62%) de produto, p.f.=182-184°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=0)=380\text{nm}$, $\epsilon_{380\text{nm}}=13925\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 62.98(62.34)%C, 4.21(4.22)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{OBF}_4$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pH=0) δ 2.20 (s, 3H, CH_3), 7.09 (t, $J=7.70\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.19 (t, $J=7.42\text{Hz}$, 1H, H_4'), 7.36 (t, $J=7.36$, 1H, H_6 ou 7), 7.53 (d, $J=7.72\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 7.62-7.71 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_6$ ou 7), 8.83 (s, 1H, H_4).

1.2.4.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A 2.20ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto devido aos prótons do grupo metilo na posição 3. A 8.83ppm é facilmente detectada a ressonância correspondente ao próton 4 devido à sua multiplicidade (singuleto). As ressonâncias devidas aos restantes prótons só puderam ser atribuídas após a realização de um COSY. O COSY mostrou uma correlação entre o tripleto (2H) a 7.09ppm e o duplete (2H) a 7.53ppm que, devido às intensidades e multiplicidades, foram atribuídos respectivamente aos prótons 3'+5' e 2'+6'. O tripleto a 7.19ppm é o único que pode apresentar uma correlação, dificilmente detectada por estar quase sobre a diagonal, com o sinal dos prótons 3'+5' e é por isso atribuído ao próton 4'. Resta ainda um tripleto a 7.36ppm (1H) que corresponde ao próton 6 ou 7, que apresenta uma correlação com o multiplete entre 7.62-7.72ppm (3H) onde se encontram os restantes prótons 5,8 e 6 ou 7. O sinal a 7.36ppm não pode ser inequivocamente atribuído uma vez que todos os prótons que podem ter interações, quer a longa distância (COSY) quer espaciais (NOESY), com este próton se encontram sob o mesmo multiplete. Para além destas é ainda visível uma correlação fraca entre o singuleto do próton 4 e o multiplete onde se encontra o próton 5.

1.2.5. Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio



1.2.5.1. Síntese

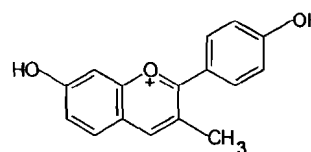
Foi borbulhado durante 4h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 1.50g (0.01mol) de 4'-hidroxi-2-metilacetofenona e 1.05ml (0.01mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 10ml de ácido acético glacial e 20ml de acetato de etilo (método B). Após este período de tempo precipitou um sólido cor de laranja avermelhada. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com ácido acético glacial frio e éter etílico.

Foram obtidos 0.87g (32%) de produto, p.f.=215-219°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=425\text{nm}$, $\varepsilon_{425\text{nm}}=29800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 65.63(65.68)%C, 5.28(5.20)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{Cl} \cdot 1.1\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.58 (s, 3H, CH_3), 7.02 (d, $J=8.56\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.82 (t, $J=7.76\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{6 \text{ ou } 7}$), 8.09-8.14 (m, 5H, $\text{H}_{2'+6'} + \text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_{6 \text{ ou } 7}$), 9.08 (s, 1H, H_4).

1.2.5.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição dos sinais do espectro deste composto foi feita por comparação com a atribuição do 3-metilflavílio (1.2.4.2). Assim, a 2.58ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto devido aos prótons do grupo metilo na posição 3. A 9.08ppm é detectada a ressonância correspondente ao próton 4 devido à sua multiplicidade (singuleto). A 7.02ppm aparece a ressonância devida aos prótons $3'+5'$, a 7.82ppm aparece a ressonância devida ao próton 6 ou 7 (impossíveis de distinguir em experiências de ^1H RMN) e entre 8.09-8.14ppm, num multiplete de 5 prótons, as restantes ressonâncias dos prótons $2'+6'$, 5, 8 e 6 ou 7.

1.2.6. Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio



1.2.6.1. Síntese

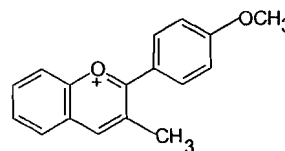
Foi borbulhado durante 3h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 1.38g (0.01mol) de 4'-hidroxi-2-metilacetofenona e 1.52g (0.01mol) de 2,4-dihidroxibenzaldeído em 10ml de ácido acético glacial e 25ml de acetato de etilo (método B). Após este período de tempo começou a precipitar um sólido cor de laranja. O ácido clorídrico foi mantido a borbulhar por mais 1h. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com ácido acético glacial frio, água fria e éter etílico. Foram obtidos 1.33g (46%) de produto, p.f.= 290-293°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=427\text{nm}$, $\varepsilon_{427\text{nm}}=33800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Análise elementar [experimental (teórico)]: 64.98(64.93)%C, 4.88(4.66)%H, $C_{16}H_{13}O_3Cl \cdot 0.4H_2O$. 1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.60 (s, 3H, CH_3), 7.02 (d, $J=8.80Hz$, 2H, $H_{3'+5'}$), 7.34 (m, 2H, $H_{6 \text{ ou } 5} + H_8$), 7.96 (d, $J=8.80Hz$, 2H, $H_{2'+6'}$), 7.97 (d, $J=8.40Hz$, 1H, $H_{5 \text{ ou } 6}$), 8.89 (s, 1H, H_4).

1.2.6.2. Análise do espectro de 1H RMN

A 2.60ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto devido aos prótons do grupo metilo na posição 3. A 8.89ppm é detectada imediatamente a ressonância correspondente ao próton 4. A atribuição dos sinais correspondentes aos prótons $3'+5'$ a 7.02ppm e aos prótons $2'+6'$ a 7.96ppm foi feita por comparação com a atribuição do 4'-hidroxi-3-metilflavílio (1.2.5.2). A 7.34ppm é possível atribuir a ressonância ao próton 8 (singuleto) e a mais um próton que pode ser o 6 ou o 5, estando o duplete do último próton (6 ou 5) a 7.97ppm. Mais uma vez não é possível por experiências de 1H RMN distinguir o sinal do próton 5 do 6.

1.2.7. Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio



1.2.7.1. Síntese

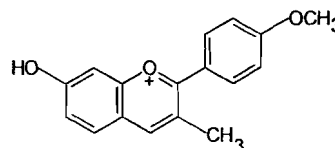
A uma solução contendo 1.64g (0.01mol) de 2-metil-4'-metoxiacetofenona e 1ml (0.01mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 25ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 20ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente. Findo este período a mistura reaccional foi colocada em gelo e precipitou um sólido de cor laranja. O produto foi recristalizado de ácido perclórico a 5%, com adição de ácido perclórico a 66%. Precipitou sob a forma de agulhas vermelhas. O

sólido foi filtrado sob vácuo e lavado. Foram obtidos 0.44g (13%) de produto, p.f.=150-153°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=425\text{nm}$, $\epsilon_{425\text{nm}}=28000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 50.47(50.88)%C, 4.33(5.13)%H, $\text{C}_{167}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{ClO}_4 \cdot 2.8\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.73 (s, 3H, CH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 7.15 (d, $J=9.00\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.81 (t, $J=6.92\text{Hz}$, 1H, H_6 ou 7), 8.09-8.14 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_6$ ou 7), 8.17 (d, $J=9.00\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 9.11 (s, 1H, H_4).

1.2.7.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição das ressonâncias de cada um dos prótons é análoga à do 4'-hidroxi-3-metilflavílio (1.2.5.2).

1.2.8. Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio



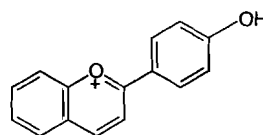
1.2.8.1. Síntese

A uma solução contendo 1.64g (0.01mol) de 2-metil-4'-metoxiacetofenona e 1.40g (0.01mol) de 2,4'-dihidroxibenzaldeído em 25ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 20ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 70°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente e posteriormente 1 dia em repouso. Precipitou um sólido de cor laranja. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial e éter etílico. Foram obtidos 3.06g (86%) de produto, p.f.=147-148°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=447\text{nm}$, $\epsilon_{447\text{nm}}=27250\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 47.99(48.38)%C, 4.34(5.34)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{BF}_4 \cdot 3.1\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.60 (s, 3H, CH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 6.84 (d, $J=9.00\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.07 (ds, $J=1.96\text{Hz}$, 1H, H_8), 7.08 (dd, $J=1.96, 8.12\text{Hz}$, 1H, H_6), 7.72-7.75 (m, 3H, $\text{H}_{2'+6'} + \text{H}_5$), 8.66 (s, 1H, H_4).

1.2.8.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição das ressonâncias de cada um dos prótons é análoga à do 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio (1.2.6.2).

1.2.9. Perclorato de 4'-hidroxiflavílio



1.2.9.1. Síntese

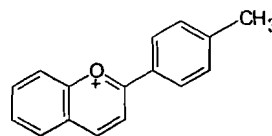
A uma solução contendo 1.36ml (0.01mol) de 4'-hidroxiacetofenona e 1ml (0.01mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 25ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 20ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 16h à temperatura ambiente. Findo este período, por adição de éter etílico, precipitou um sólido de cor vermelha. O produto foi recristalizado de ácido perclórico a 5% com adição de ácido perclórico a 66%. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial e éter etílico. Foram obtidos 1.68g (52%) de produto, p.f.=237-240°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=435\text{nm}$, $\epsilon_{435\text{nm}}=41000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 49.68(49.95)%C, 3.21(4.21)%H, $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{ClO}_4 \cdot 2.1\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 7.08 (d, 8.96Hz, 2H, $\text{H}_{3'} + 5'$), 7.81 (t, $J=7.20\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.09-8.16 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.40 (d, $J=9.20\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'} + 6'$), 8.39 (d, $J=9.24\text{Hz}$, 1H, H_3), 9.08 (d, $J=9.20\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.9.2. Análise do espectro de ^1H RMN

Os dupletos de intensidade correspondente a 1 próton a 9.08ppm e a 8.40ppm foram atribuídas aos prótons 4 e 3, uma vez que estes aparecem caracteristicamente por esta ordem, a campo mais baixo que os restantes prótons, na generalidade dos flavílios. O espectro COSY confirma esta atribuição mostrando uma forte correlação entre estes dois sinais. Para além disso é visível uma correlação entre os dupletos (2H) a 8.40ppm e a

7.08ppm correspondentes aos prótons 2'+6' e 3'+5', aparecendo a campo mais alto os prótons em posição *orto* em relação ao grupo hidroxilo em 4'. À semelhança do que acontece na maioria dos flavílios não substituídos no anel A, é detectada uma correlação entre o tripleto a 7.81ppm (1H) que corresponde ao próton 6 ou 7 e o multiplete a 8.09-8.16ppm (3H) onde se encontram os restantes prótons 5, 8 e 6 ou 7, que não permite uma atribuição inequívoca dos prótons. O espectro NOESY mostra para além das correlações já detectadas no COSY, uma interacção espacial bastante fraca entre o duplete a 9.08ppm atribuído ao próton 4 e o multiplete a 8.09-8.16ppm onde se encontra o próton 5, confirmando a atribuição do primeiro próton. É de notar que a correlação esperada entre os prótons 2'+6' e 3 não é visível provavelmente por se encontrar sob as correlações da diagonal, devido a uma sobreposição dos sinais destes prótons. Este facto contribui para a confirmação da ordem de atribuição dos prótons 2'+6' e 3'+5'.

1.2.10. Perclorato de 4'-metilflavílio



1.2.10.1. Síntese

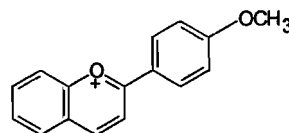
A uma solução contendo 2.70ml (0.02mol) de 4'-metilacetofenona e 2ml (0.02mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 25ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 10ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 16h à temperatura ambiente. Durante este período precipitou um sólido de cor amarela. Foram adicionados 50ml de acetato de etilo e o sólido filtrado sob vácuo e lavado. Em seguida foi recristalizado de ácido perclórico a 5% com adição de ácido perclórico a 66%. Foram obtidos 3.43g (54%) de produto, p.f.=216-219°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=407\text{nm}$,

$\epsilon_{407\text{nm}}=36500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 2.41 (s, 3H, CH_3), 7.49 (d, $J=8.01\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'} + 5'$), 7.87 (t, $J=6.86\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.19 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.33 (d, $J=8.08\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'} + 6'$), 8.56 (d, $J=8.96\text{Hz}$, 1H, H_3), 9.28 (d, $J=8.92\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.10.2. Análise do espectros de ^1H RMN

A atribuição das ressonâncias de cada um dos protões é análoga à do 4'-hidroxiflavílio (1.2.9.2), excepto a existência de um singuleto a 2.41ppm, com intensidade correspondente a 3 protões, característico dos protões do grupo metilo substituído na posição 4'.

1.2.11. Perclorato de 4'-metoxiflavílio



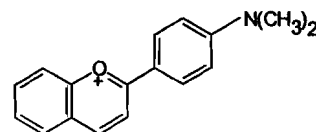
1.2.11.1. Síntese

Foi borbulhado durante 4h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 1.50g (0.01mol) de 4'-metoxiacetofenona e 1ml (0.01mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 20ml de ácido fórmico a 85% (método B). Nesta altura foi interrompido o fluxo de ácido e foram adicionados 20ml de ácido perclórico a 20%. Precipitou um sólido laranja. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial frio e éter etílico. Foram obtidos 1.55g (46%) de produto, p.f.=200-201°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=435\text{nm}$, $\epsilon_{435\text{nm}}=42000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 55.55(55.57)%C, 3.92(4.05)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{ClO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 3.97 (s, 3H, OCH_3), 7.25 (d, $J=9.08\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'} + 5'$), 7.86 (t, $J=8.00\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.18-8.22 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_{6\text{ ou }7}$), 8.49 (d, $J=9.08\text{Hz}$, 3H, $\text{H}_{2'} + 6' + \text{H}_3$), 9.17 (d, $J=9.08\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.11.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição das ressonâncias de cada um dos prótons é análoga à do 4'-hidroxiflavílio (1.2.9.2), excepto a existência de um singuleto a 3.97ppm, com intensidade correspondente a 3 prótons, característico dos prótons do grupo metoxilo que se encontra substituído na posição 4'.

1.2.12. Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio



1.2.12.1. Síntese

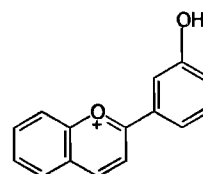
A uma solução contendo 0.5g (0.003mol) de 4'-(N,N-dimetilamino)acetofenona e 0.33ml (0.003mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 8ml de ácido acético glacial e 1.5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 8ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 75°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente e em repouso por mais um dia. Precipitou um sólido de cor violeta. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial e éter etílico. Foram obtidos 0.21g (21%) de produto, p.f.=216-220°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=522\text{nm}$, $\epsilon_{522\text{nm}}=45000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 53.33(53.18)%C, 5.50(5.06)%H, 3.63(3.65)%N, $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ONBF}_4 \cdot 0.7\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.59 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 6.08 (d, $J=9.24\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'} + \text{H}_{5'}$), 7.13-7.17 (m, 2H, H_6 ou 7 + H_5 ou 8), 7.28-7.31 (m, 2H, $\text{H}_3 + \text{H}_{5\text{ou}8}$), 7.36 (t, $J=9.22$, 2H, $\text{H}_{2'6'}$), 7.42 (t, $J=7.54\text{Hz}$, 1H, H_6 ou 7), 7.79 (d, $J=9.30\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.12.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição dos sinais deste composto só foi conseguida após um espectro COSY. Este espectro mostra uma correlação entre o duplete (1H) a 7.79ppm atribuído ao próton 4

e o multipeto a 7.28-7.31ppm, mostrando que aí se encontra ao sinal do protão 3. Por outro lado o dupeto (2H) a 6.08ppm atribuído aos protões 3'5' apresenta uma correlação com o dupeto (2H) a 7.36ppm, que é então atribuído aos protões 2'6'. O tripeito de intensidade correspondente a 1 protão a 7.42ppm, devido à sua multiplicidade, é atribuído ao protão 6 ou 7. Como este tripeito não apresenta correlação com o multipeto a 7.28-7.31ppm pode concluir-se que neste último se encontra o protão 5 ou 8, conforme o primeiro tripeito corresponda ao protão 7 ou 6 respectivamente. Por fim no multipeto a 7.13-7.17ppm encontram-se os protões 5 ou 8 e 6 ou 7 que restam. Devido à singular posição ocupada pelos picos correspondentes aos protões 5, 6, 7 e 8 torna-se impossível fazer uma atribuição mais específica dos seus sinais. O espectro NOESY para além das correlações já detectadas por COSY, apresenta uma correlação fraca entre o dupeto a 7.36ppm correspondente aos protões 2'6' e o multipeto a 7.28-7.31ppm, confirmando a presença do protão 3 sob este último sinal.

1.2.13. Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio



1.2.13.1. Síntese

A uma solução contendo 0.7g (0.005mol) de 3'-hidroxiacetofenona e 0.5ml (0.005mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 5ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 10ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente. Findo este período, por adição de éter dietílico, precipitou um sólido de cor amarela escura. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado sucessivamente com água fria, ácido acético e éter etílico. Obtiveram-se 0.63g (40.6%) de produto, p.f.=197-199°C,

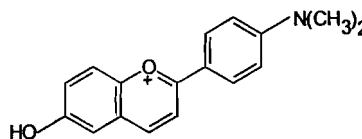
$\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=385\text{nm}$, $\varepsilon_{385\text{nm}}=19100\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 52.21(52.27)%C, 3.28(4.26)%H, $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2 \cdot \text{BF}_4 \cdot 1.8\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 7.22 (d, $J=8.00\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7.47 (t, $J=8.00\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{5'}$), 7.77 (s, 1H, $\text{H}_{2'}$), 7.85 (t, 1H, $\text{H}_{6 \text{ ou } 7}$), 7.93 (d, $J=7.60\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{6'}$), 8.18-8.20 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_{6 \text{ ou } 7}$), 8.56 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_3), 9.33 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.13.2. Análise do espectro de ^1H RMN

Os dupletos de intensidade correspondente a 1 próton a 9.33ppm e a 8.56ppm foram atribuídos aos prótons 4 e 3, uma vez que estes aparecem caracteristicamente por esta ordem a campo mais baixo que os restantes prótons na generalidade dos flavílios. A 7.77ppm aparece a ressonância do próton 2' como único singuleto (1H) e portanto facilmente atribuído. As ressonâncias devidas aos restantes prótons só puderam ser atribuídas após a realização de um COSY (espectroscopia de correlação) e de um posterior NOESY para confirmar algumas das atribuições. O COSY mostrou uma correlação intensa entre o duplete a 8.56ppm (1H) e o duplete a 9.33ppm (1H) comprovando a atribuição destes sinais respectivamente aos prótons 3 e 4. Para além desta correlação o sinal a 8.56ppm do próton 3 apresenta ainda correlações pouco intensas com o singuleto a 7.77ppm do próton 2' e com o duplete a 7.93ppm (1H) que pode então ser atribuído ao próton 6'. Por sua vez o próton 6' apresenta uma correlação intensa com o triplete a 7.47ppm (1H) atribuível ao próton 5'. O próton 5' também apresenta uma correlação intensa com o duplete a 7.22ppm (1H) que se atribui ao próton 4', que por sua vez apresenta uma fraca correlação com o singuleto a 7.77ppm do próton 2' confirmando a atribuição. Para além das anteriores é ainda possível ver uma correlação entre o triplete a 7.85ppm (1H) que corresponde ao próton 6 ou 7 e um multiplete entre 8.18-8.20ppm (3H) onde se encontram os restantes prótons 5, 8 e 6 ou 7, esta característica distribuição destes prótons não permite estabelecer nenhuma atribuição inequívoca com base nesta correlação.

Devido ao grande número de correlações que foi possível detectar no COSY, o NOESY apenas serve para confirmar as atribuições anteriores uma vez que as interações espaciais que mostra correspondem a todas as correlações já detectadas no COSY exceptuando a correlação fraca entre o protão 2' e 4' que não se verifica espacialmente devido à presença do grupo hidroxilo em 3'. É ainda possível ver uma correlação espacial entre os sinais dos protões 4 e 5, que não era detectada a longa distância no COSY.

1.2.14. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio



1.2.14.1. Síntese

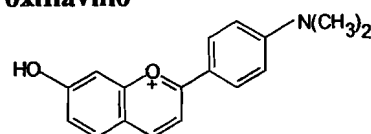
Foi borbulhado durante 8h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 0.81g (0.005mol) de 4'-(N,N-dimetilamino)acetofenona e 0.69ml (0.005mol) de 2,5-dihidroxibenzaldeído em 10ml de ácido fórmico a 85% (método B). Nesta altura foi interrompido o fluxo de ácido e foram adicionados 20ml de ácido perclórico a 20%. Precipitou um sólido castanho. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial frio e éter etílico. Foram obtidos 1.01g (55%) de produto, p.f.=258-260°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=530\text{nm}$, $\epsilon_{530\text{nm}}=42500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 54.78(54.74)%C, 5.00(4.51)%H, 3.91(3.76)%N, $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{NClO}_4 \cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.59 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 6.66 (d, $J=8.84\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.02 (s, 1H, H_5), 7.26 (d, $J=8.68\text{Hz}$, 1H, H_7), 7.53 (d, $J=8.68\text{Hz}$, 1H, H_8), 7.77 (d, $J=9.32\text{Hz}$, 1H, H_3), 7.91 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 8.15 (d, $J=9.24\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.15.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A 2.59ppm aparece o singuleto (6H) correspondente aos protões dos grupos metilo da dimetilamina substituída na posição 4'. Por comparação com os flavílios anteriores e

recorrendo às constantes de acoplamento é possível atribuir de imediato os dupletos de 1 protão a 8.15ppm ($J=9.24\text{Hz}$) e a 7.77ppm ($J=9.32\text{Hz}$) respectivamente aos protões 4 e 3. Do mesmo modo é imediata a atribuição dos dupletos de 2 protões a 7.91ppm ($J=8.80\text{Hz}$) e a 6.66ppm ($J=8.84\text{Hz}$) respectivamente aos protões 2'+6' e 3'+5'. Ao duplete (1H) a 7.26ppm e ao singuleto (1H) a 7.02ppm são atribuídos respectivamente os protões 7 e 5, devido ao alargamento visível dos sinais resultante da interação a longa distância entre estes protões. Por fim resta o duplete a 7.53ppm do protão 8.

1.2.15. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiavílio



1.2.15.1. Síntese

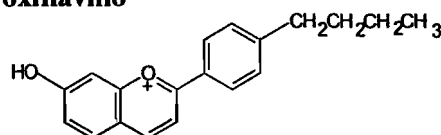
Foi borbulhado durante 5h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 0.81g (0.005mol) de 4'-(N,N-dimetilamino)acetofenona e 0.70g (0.005mol) de 2,4-dihidroxibenzaldeído em 10ml de ácido fórmico a 85% (método B). Precipitou um sólido de cor vermelha. O sólido foi recristalizado de ácido perclórico a 3% com adição de ácido perclórico a 66%. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com ácido acético glacial frio e éter etílico. Foram obtidos 1.02g (56%) de produto, decompõe a 216°C , $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=455\text{nm}$, $\epsilon_{455\text{nm}}=32000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 42.12(42.59)%C, 4.75(5.95)%H, 3.03(2.93)%N, $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{NClO}_4 \cdot 6.3\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.55 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 6.95 (d, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.08 (d, 1H, H_6), 7.13 (s, 1H, H_8), 7.72 (d, 1H, H_5), 7.78 (d, 1H, H_3), 8.03 (d, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 8.44 (d, 1H, H_4).

1.2.15.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A 2.55ppm aparece o singuleto (6H) correspondente aos protões dos grupos metilo da dimetilamina substituída na posição 4'. Por analogia com o espectro do 6-hidroxi-4'-(N,N-dimetilamino)avílio (1.2.16.2) são atribuídos os dupletos de 1 protão a 8.44ppm e

7.78ppm respectivamente aos prótons 4 e 3. Do mesmo modo são atribuídos aos dupletos de 2 prótons a 8.03ppm e 6.95ppm respectivamente os prótons 2'+6' e 3'+5'. Ao duplete a 7.08ppm (1H) e ao singuleto (1H) a 7.13ppm são atribuídos respectivamente os prótons 6 e 8, devido ao alargamento visível dos sinais resultante da interacção a longa distância entre estes prótons. Por fim resta o duplete a 7.72ppm do próton 5.

1.2.16. Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiavílio



1.2.16.1. Síntese

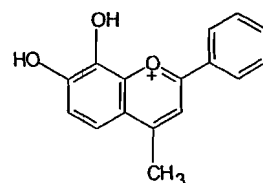
A uma solução contendo 1.84ml (0.01mol) de 4'-butilacetofenona e 1.4g (0.01mol) de 2,4-dihidroxibenzaldeído em 15ml de ácido acético glacial e 5ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 10ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 80°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente. Precipitou um sólido de cor laranja. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado. Foram obtidos 1.31g (36%) de produto, p.f.=146-147°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=438\text{nm}$, $\epsilon_{438\text{nm}}=27000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 57.36(57.49)%C, 5.26(5.65)%H, $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{BF}_4 \cdot 1.7\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 0.57 (t, $J=7.34\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.01 (se, $J=7.38\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.33 (qi, $J=7.50\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.45 (t, $J=7.62\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.28 (dd, $J=9.20\text{Hz}$, 1H, H_6), 7.37-7.40 (m, 3H, $\text{H}_{3'5'}+\text{H}_8$), 7.97 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_5), 8.11-8.14 (m, 3H, $\text{H}_{2'+6'}+\text{H}_3$), 8.95 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.16.2. Análise do espectro de ^1H RMN

Em relação ao grupo butilo substituído na posição 4', a 0.57ppm aparece o triplete (3H) correspondente aos prótons dos grupos metilo terminal que acopla com os 2 prótons

vizinhos. Por sua vez esses 2 prótons aparecem a 1.01ppm num sextupeto devido a acoplarem não só com os 3 prótons terminais, como também com os 2 prótons que os antecedem. Estes últimos prótons aparecem a 1.33ppm num quintupeto desdobrado pelo acoplamento com os primeiros 2 prótons e com os 2 prótons vizinhos do grupo metileno que liga ao anel benzénico. Por fim, os 2 prótons do metileno que liga ao anel benzénico aparecem a 2.45ppm num triplete devido a apenas poder haver acoplamento com 2 prótons vizinhos. A total atribuição dos prótons aromáticos só pode ser feita através de um espectro COSY. O duplete de duplete a 7.28 ppm (1H) corresponde ao próton 6 que acopla a longa distância com o 8. A correlação que é visível no COSY entre este sinal e o duplete a 7.97ppm (1H), permite atribuir este último sinal ao próton 5. Por outro lado a correlação que existe entre o duplete (1H) a 8.95ppm correspondente ao próton 4 e o multipeto a 8.11-8.14ppm, permite concluir que sob este último se encontra o próton 3. Por fim a correlação entre o multipeto a 8.11-8.14ppm e o multipeto a 7.37-7.40ppm permite concluir que sob estes dois sinais se encontram respectivamente os prótons 2'6' e 3'5'. O singuleto do próton 8 que resta tem que se encontrar sob o multipeto a 7.37-7.40ppm atendendo à integração de 3 prótons que este apresenta.

1.2.17. Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio



1.2.17.1. Síntese

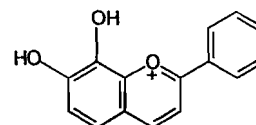
Foi borbulhado durante 2h ácido clorídrico (g) produzido *in situ* numa solução contendo 1.62g (0.01mol) de benzoílaceta e 1.26g (0.01mol) de 1,2,3-trihidroxibenzeno em 5ml de ácido acético glacial (método A). Após este período de tempo precipitou um sólido cor vermelha escura. Nesta altura foi interrompido o borbulhar de ácido e a mistura reaccional ficou em repouso durante a noite. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado

sucessivamente com ácido acético glacial frio, etanol frio e éter etílico. Foram obtidos no final 1.97g (68%) de produto, p.f.=153-157°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=435\text{nm}$, $\epsilon_{435\text{nm}}=20000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 64.28(63.25)%C, 4.16(4.30)%H, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{Cl}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 2.78 (s, 3H, CH_3), 7.28 (d, $J=6.84$, 1H, H_6), 7.47 (t, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.59 (t, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7.71 (s, $J=8.64\text{Hz}$, 1H, H_5), 8.07 (s, 1H, H_3), 8.14 (d, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$).

1.2.17.2. Análise do espectro de ^1H NMR

As ressonâncias devidas aos prótons $3'+5'$ a 7.47ppm e $2'+6'$ a 8.14ppm são facilmente identificadas devido à sua intensidade correspondente a 2 prótons magneticamente equivalentes e multiplicidade. A ressonância do próton $4'$ a 7.59ppm também é facilmente identificada pela sua multiplicidade devida ao acoplamento deste próton com os prótons $3'$ e $5'$. O próton 3 com ressonância a 8.07ppm é identificado dado ser o único singuleto. Restam os prótons 6 e 5 , com ressonâncias a 7.28ppm e 8.64ppm, indistinguíveis por ^1H RMN. A 2.78ppm, com uma intensidade correspondente a três prótons, aparece o singuleto devido aos prótons do grupo metilo na posição 4.

1.2.18. Cloreto de 7,8-dihidroxiavílio



1.2.18.1. Síntese

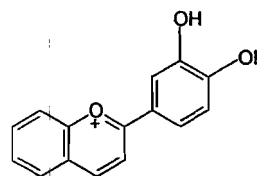
A uma solução contendo 0.58ml (0.005mol) de acetofenona e 0.77g (0.005mol) de 2,3,4-trihidroxibenzaldeído em 10ml de ácido acético glacial, foram adicionados, sob agitação, 2.5ml de ácido sulfúrico (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 15min à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi então deixada em repouso. Após 4 dias era visível precipitado vermelho escuro. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado, tendo-se obtido 1.26g (95%) de produto. Este produto foi

recristalizado de ácido clorídrico a 3% com adição de ácido clorídrico puro. No final foram obtidos 0.98g (72%) de produto, p.f.=230-234°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=395\text{nm}$, $\epsilon_{365\text{nm}}=15000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]: 60.34(60.42)%C, 4.49(4.56)%H, $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{Cl}\cdot 1.3\text{H}_2\text{O}$. ^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) 7.31 (d, $J=8.84\text{Hz}$, 1H, H_6), 7.49 (t, $J=7.54\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_3 + \text{H}_5$), 7.59-7.64 (m, 2H, $\text{H}_5 + \text{H}_4$), 8.10-8.15 (m, 3H, $\text{H}_2 + \text{H}_6 + \text{H}_3$), 8.99 (d, $J=8.48\text{Hz}$, 1H, H_4).

1.2.18.2. Análise do espectro de ^1H RMN

A atribuição das ressonâncias de cada um dos prótons é análoga à do 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio (1.2.19.2), excepto a ressonância correspondente ao próton 4 que aparece a 8.99ppm num duplete acoplado com o próton 3 cujo sinal está sob o multiplete a 8.10-8.15ppm.

1.2.19. Perclorato de 3',4'-dihidroxi-4-metilflavílio



1.2.19.1. Síntese

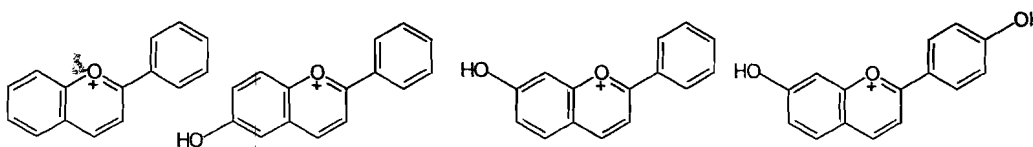
A uma solução contendo 0.31g (0.002mol) de 3',4'-dihidroxiacetofenona e 0.2ml (0.002mol) de 2-hidroxibenzaldeído em 2.5ml de ácido acético glacial e 2ml de ácido tetrafluorobórico (solução aquosa a 48%), foram adicionados, sob agitação, gota a gota 2.5ml de anidrido acético, mantendo a temperatura da mistura reaccional em torno de 75°C (método B). Após o final da adição, a mistura reaccional ficou sob agitação durante 12h à temperatura ambiente e posteriormente em repouso durante 1 semana. Findo este período, por adição de éter etílico, precipitou um sólido de cor vermelha. O sólido foi filtrado sob vácuo e recristalizado de ácido perclórico a 5% com adição de ácido perclórico a 66%. Foram obtidos 0.065g (10%) de produto, p.f.=134-135°C, $\lambda_{\text{máx}}(\text{H}_2\text{O}, \text{pH}=1)=455\text{nm}$, $\epsilon_{455\text{nm}}=11800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Análise elementar [experimental (teórico)]:

49.24(49.49)%C, 3.69(3.79)%H, $C_{15}H_{11}O_3ClO_4 \cdot 1.4H_2O$. 1H RMN (400MHz, D_2O , $pD=1$) δ 6.95 (d, $J=8.80Hz$, 1H, $H_{5'}$), 7.68 (t, 1H, H_6 ou 7), 7.76 (s, 1H, $H_{2'}$), 7.91 (d, $J=8.00Hz$, 1H, $H_{6'}$), 7.98-8.08 (m, 3H, $H_5 + H_8 + H_6$ ou 7), 8.26 (d, $J=8.80Hz$, 1H, H_3), 9.92 (d, $J=8.80Hz$, 1H, H_4).

1.2.19.2. Análise do espectro de 1H RMN

Os dupletos de intensidade correspondente a 1 próton a 9.92ppm e a 8.26ppm foram atribuídos aos prótons 4 e 3, por analogia com os espectros da generalidade dos flavílios. Esta atribuição é confirmada por COSY onde é possível ver uma correlação entre estes dois prótons. Os outros dois dupletos de intensidade correspondente a um próton a 6.95ppm e 7.91ppm também apresentam uma correlação a longa distância sendo por isso atribuídos aos prótons 5' e 6' respectivamente. O único singuleto a 7.76ppm é imediatamente atribuído ao próton 2'. É ainda possível ver uma correlação entre o triplete a 7.68ppm (1H) que corresponde ao próton 6 ou 7 e um multiplete entre 7.98-8.08ppm (3H) onde se encontram os restantes prótons 5,8 e 6 ou 7, esta característica distribuição destes prótons não permite estabelecer nenhuma atribuição inequívoca com base nesta correlação.

1.2.20. Perclorato de flavílio, cloreto de 6-hidroxiflavílio, cloreto de 7-hidroxiflavílio e cloreto de 7,4'-dihidroxiflavílio



1.2.20.1. Síntese

Estes compostos já se encontravam previamente sintetizados pelo que apenas foram traçados espectros de 1H RMN de modo a certificar a sua pureza.

1.2.20.2. Análise dos espectros de ^1H RMN

1.2.20.2.1. Perclorato de flavílio

^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 7.65 (t, $J=7.69\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.80 (t, $J=7.33\text{Hz}$, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7.87 (t, 1H, H_6 ou 7), 8.20-8.22 (m, 3H, $\text{H}_5 + \text{H}_8 + \text{H}_6$ ou 7), 8.41 (d, $J=7.80\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 8.63 (d, $J=8.85\text{Hz}$, 1H, H_3), 9.37 (d, $J=8.85\text{Hz}$, 1H, H_4).

A totalidade das atribuições neste composto só é conseguida após efectuar um espectro COSY. As ressonâncias devidas aos prótons $3'+5'$ a 7.65ppm e aos prótons $2'+6'$ a 8.41ppm são facilmente identificadas pela sua intensidade e multiplicidade e a sua atribuição confirmada pela correlação entre estes picos visível em COSY. O tripleto dos prótons $3'+5'$ a 7.65ppm apresenta ainda uma outra correlação com o tripleto (1H) a 7.80ppm que é por isso atribuído ao próton $4'$. Também o duplete devido aos prótons $2'+6'$ a 8.41ppm apresenta uma outra correlação embora mais fraca com o duplete (1H) a 8.63ppm atribuído portanto ao próton 3. A correlação do sinal do próton 3 com o duplete (1H) a 9.37ppm permite identificar este último como devido ao próton 4, confirmando o aparecimento habitual destes dois prótons a campo mais baixo que os restantes.

Quanto aos sinais que remanescem, é possível atribuir ao tripleto a 7.87ppm devido à sua multiplicidade o próton 6 ou 7 e ao multiplete a 8.20-8.22ppm os prótons 5, 8 e 6 ou 7. Não é possível fazer uma atribuição inequívoca dos prótons 6 ou 7 devido aos sinais dos prótons 5 e 8 se encontrarem sobrepostos num multiplete e portanto a correlação entre este sinal e o tripleto a 7.87ppm se tornar inútil.

Para além das correlações já analisadas é ainda possível detectar em COSY uma interacção fraca a longa distância entre os prótons $2'6'$ e o próton $4'$ e uma outra também de pequena intensidade entre o próton 5 e o 4.

1.2.20.2.2. Cloreto de 6-hidroxiavílio

^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 7.50 (s, 1H, H_5), 7.68 (t, $J=7.65\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.79-7.83 (m, 2H, $\text{H}_4' + \text{H}_7$), 8.18 (d, $J=9.36$, 1H, H_8), 8.40 (d, $J=8.00\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 8.58 (d, $J=9.00\text{Hz}$, 1H, H_3), 9.22 (d, $J=9.00\text{Hz}$, 1H, H_4).

As ressonâncias a 9.22ppm e 8.58ppm são identificadas por analogia com os restantes flavílios como pertencendo respectivamente aos prótons 4 e 3. As ressonâncias devidas aos prótons $3'+5'$ a 7.68ppm e aos prótons $2'+6'$ a 8.40ppm são facilmente identificadas pela sua intensidade e multiplicidade. A ressonância correspondente ao próton $4'$, devido à sua multiplicidade, tem que se encontrar no multipeto a 7.79-7.83ppm. O sinal a 7.50ppm por ser o único singuleto é atribuído ao próton 5. O próton 7 encontra-se no multipeto a 7.79-7.83ppm, sendo visível um alargamento do seu sinal devido ao acoplamento a longa distância com o próton 5. O duplete que resta a 8.18ppm corresponde ao próton 8.

1.2.20.2.3. Cloreto de 7-hidroxiavílio

^1H RMN (400MHz, D_2O , $\text{pD}=1$) δ 7.27 (dd, $J=1.65$, 8.80Hz , 1H, H_6), 7.31 (ds, $J=1.65\text{Hz}$, 1H, H_8), 7.48 (t, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.61 (t, 1H, H_4'), 7.97 (d, $J=9.20\text{Hz}$, 1H, H_5), 8.10-8.14 (m, 3H, $\text{H}_3 + \text{H}_{2'+6'}$), 8.98 (d, $J=8.40\text{Hz}$, 1H, H_4).

As ressonâncias a 8.98ppm e 7.97ppm são identificadas por analogia com os restantes flavílios como pertencendo respectivamente aos prótons 4 e 3. As ressonâncias devidas aos prótons $3'+5'$ a 7.48ppm e aos prótons $2'+6'$ a 8.10-8.14ppm são facilmente identificadas pela sua intensidade e multiplicidade. A ressonância correspondente ao próton $4'$, identificada devido à sua multiplicidade, aparece a 7.61ppm. O sinal a 7.31ppm por ser o único singuleto é atribuído ao próton 8. O próton 6 encontra-se 7.27ppm no único

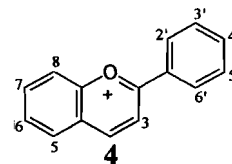
duplete de duplete devido ao acoplamento com o próton 5 e ao acoplamento a longa distância com o próton 8. O duplete que resta a 7.97ppm corresponde ao próton 5.

1.2.20.2.4. Cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio

^1H RMN (400MHz, D_2O , pD=1) δ 7.15 (d, $J=8.90\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{3'+5'}$), 7.43 (dd, $J=2.3$, 8.80Hz , 1H, H_6), 7.54 (s, $J=2.3\text{Hz}$, 1H, H_8), 8.13 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_5), 8.23 (d, $J=8.80\text{Hz}$, 1H, H_3), 8.35 (d, $J=8.95\text{Hz}$, 2H, $\text{H}_{2'+6'}$), 9.05 (d, $J=8.85\text{Hz}$, 1H, H_4).

Por analogia com o 7-hidroxiavílio (1.2.20.2.3) todos os sinais deste espectro são facilmente identificados, recordando que não existe o sinal correspondente ao próton 4' que se encontra substituído por um grupo hidroxilo e também por esta razão a ressonância dos prótons 3'+5' aparece como duplete e não como triplete.

Capítulo 2. Flavílios substituídos na posição 4.

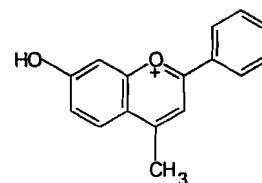


2.1.Introdução

Um dos primeiros interesses despertados pelos sais de flavílio sintéticos encontra-se relacionado com a sua potencial utilização como corantes na indústria alimentar. A sua semelhança com as antocianinas, corantes naturais consumidos desde sempre devido à sua presença na maioria dos frutos, fez com que *L. Iurd* ainda na década de 60 chamasse à atenção para o possível uso de compostos com núcleo flavílio para corar alimentos em meio ácido.^[9] Posteriormente, ao investigar os mecanismos de degradação das antocianinas em presença de dióxido de enxofre (SO₂) usado como conservante na indústria alimentar, *Timberlake* conclui que apesar do SO₂ descolorar completamente as antocianinas extraídas do morango, não tem praticamente efeito em sais de flavílio substituídos na posição 4,^[10] abrindo caminho a uma série de estudos da estabilidade deste tipo de flavílios sintéticos.

Muitos foram os autores que investigaram o efeito da posição e tipo de substituinte na estabilidade relativa das diversas formas envolvidas nos equilíbrios dos flavílios,^[35-42] e todos comprovaram que a presença de substituição na posição 4, nomeadamente grupos metilo ou fenilo, estabiliza extraordinariamente o catião flavílio e a base (formas coradas), o que de acordo com *Brouillard et al* se deve a um impedimento da hidratação que conduz ao hemiacetal e chalconas (formas incolores).^[35] Este facto torna os flavílios sintéticos contendo um grupo metilo substituído na posição 4 os mais simples do ponto de vista das transformações estruturais e equilíbrios estabelecidos em solução aquosa, uma vez que apenas apresentam catião flavílio e base quinoidal. Por este motivo foram eleitos como primeira família de sais de flavílio a ser apresentada nesta tese.

2.2. Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio



Na figura 2.1 estão representados os espectros de absorção UV/Vis. do cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio entre pH 1.60 e pH 6.42. A apreciação da figura mostra que a pH suficientemente ácido é visível uma banda de absorção a 410nm característica do catião flavílio ($\epsilon=19875\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$),^[43] que decresce à medida que o pH aumenta dando origem a uma nova banda de intensidade crescente a 460nm, correspondente à base quinoidal formada por perda de protão.

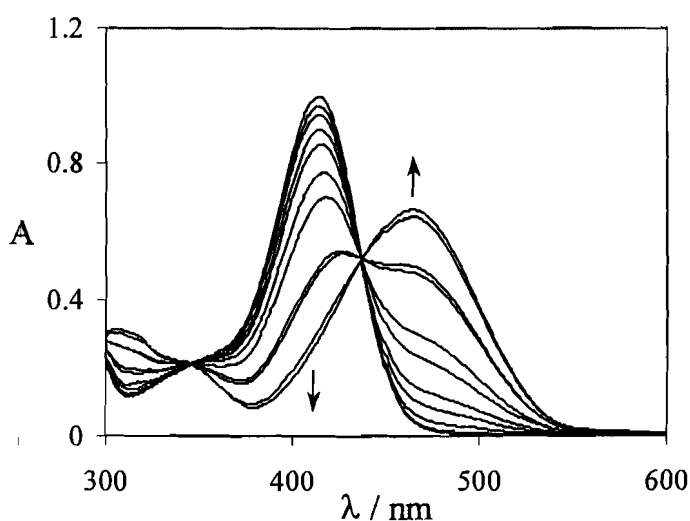


Figura 2.1 – Espectros de absorção de um solução aquosa de cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio $5 \times 10^{-5}\text{M}$ em função do pH: 1.60, 2.22, 2.92, 3.31, 3.52, 3.88, 4.12, 4.63, 4.78, 5.58, 6.42.

Para além de não serem detectadas bandas de absorção compatíveis com a formação de hemiacetal ou de chalconas, o desaparecimento da banda a 410nm do catião flavílio procede com pontos isobésticos a 345nm e 435nm, o que suporta a conclusão de apenas estarem presentes em equilíbrio duas espécies: catião flavílio e base quinoidal. Este resultado encontra-se em desacordo com o referido por alguns autores que afirmam ter

detectado a presença de absorções atribuídas a uma pequena quantidade de hemiacetal e de chalconas no equilíbrio.^[37] No entanto há também outros autores que por experiências de ^1H RMN apenas detectaram duas espécies em equilíbrio rápido característico de reacções ácido – base,^[43] o que corrobora os resultados experimentais aqui apresentados.

A existência de um equilíbrio entre apenas duas formas permite calcular o pK_a e a distribuição das fracções molares directamente através da representação do desaparecimento da absorvância a 410nm do catião flavílio e/ou do aparecimento da absorção a 460nm da base quinoidal. Na figura 2.2 estão representadas as fracções molares de ambas as espécies, tendo o ajustamento da curva aos pontos experimentais levado ao cálculo de $\text{pK}_a=4.30$ ($K_a=5.01\times 10^{-5}$).

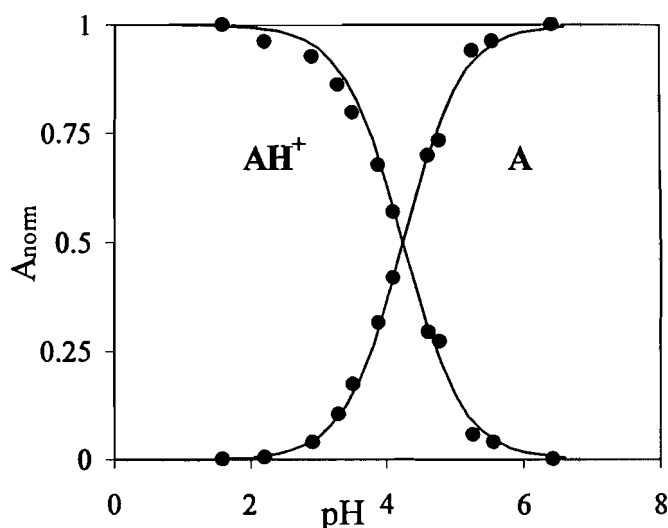
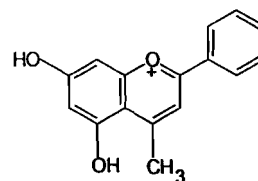


Figura 2.2 – Representação da absorbância normalizada lida a 410nm e 460nm para o 7-hidroxi-4-metilflavílio. O assentamento da curva nos pontos experimentais foi conseguido com $\text{pK}_a=4.30$.

2.3. Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio



Na figura 2.3 estão representados os espectros de absorção UV/Vis do cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio em solução aquosa entre pH 1.48 e pH 4.89. Nesses espectros é visível a presença inicial de duas bandas a 375nm e 432nm atribuíveis ao catião flavílio, que decrescem à medida que o pH aumenta ($\epsilon_{375}=17958\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{432}=12636\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Ao mesmo tempo aparece uma nova banda a 465nm, que devido à presença de pontos isobésticos a 300nm, 330nm e 460nm, é atribuída unicamente à base quinoidal.

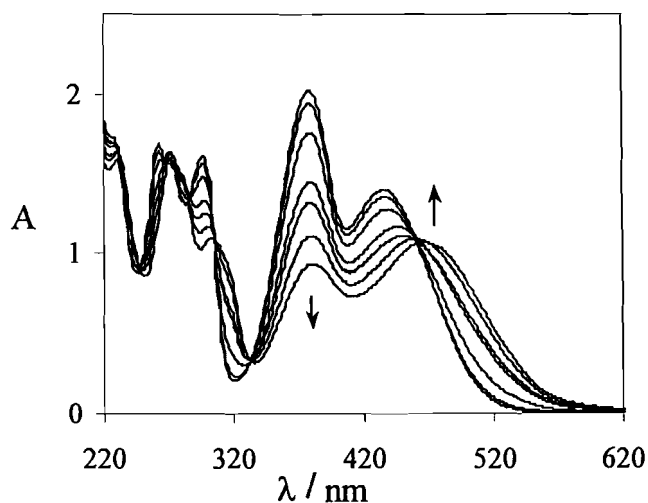


Figura 2.3 – Espectros de absorção de uma solução aquosa de cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio $1.1 \times 10^{-4}\text{M}$ em função do pH: 1.48, 2.81, 3.25, 3.80, 4.36, 4.52, 4.89.

Para valores de pH superiores a 6 (figura 2.4), à medida que o pH aumenta é visível o decréscimo da banda a 460nm correspondente à base quinoidal e o aparecimento de uma banda a 405nm. Os pontos isobésticos a 332nm, 376nm, 442nm e 520nm levam a atribuir o espectro final a pH 9.05 à base quinoidal ionizada.

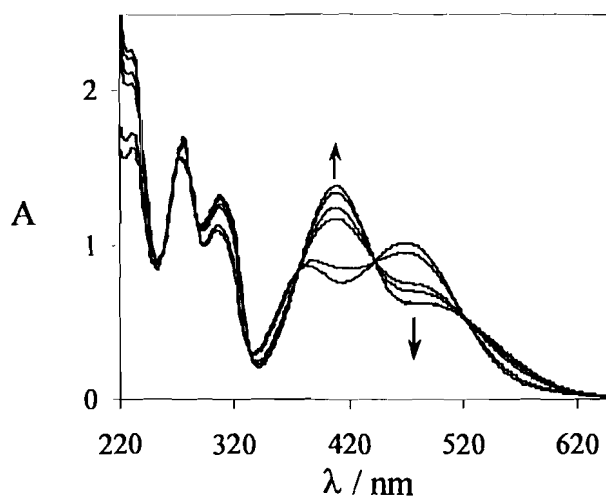
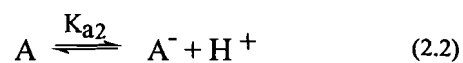
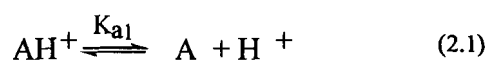


Figura 2.4 – Espectros de absorção de um solução aquosa de cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio $1.1 \times 10^{-4} \text{M}$ em função do pH: 6.26, 6.67, 7.35, 7.65, 8.33, 9.05.

À semelhança do 7-hidroxi-4-metilflavílio, também o 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio apenas apresenta evidências de equilíbrio ácido base. No entanto no presente caso existem três espécies: o catião flavílio, a base quinoidal e mais uma base quinoidal ionizada, devido à possibilidade da desprotonação de dois substituintes hidroxilo. Os equilíbrios estabelecidos são então os seguintes:



A partir das constantes de equilíbrio K_{a1} e K_{a2} é possível deduzir:

$$K_{a1} = \frac{[A] \times [H^+]}{[AH^+]} \Leftrightarrow [A] = \frac{K_{a1} \times [AH^+]}{[H^+]} \quad (2.3)$$

$$K_{a2} = \frac{[A^-] \times [H^+]}{[A]} \Leftrightarrow [A^-] = \frac{K_{a2} \times [A]}{[H^+]} \Leftrightarrow [A^-] = \frac{K_{a1} \times K_{a2} \times [AH^+]}{[H^+]^2} \quad (2.4)$$

De onde são facilmente deduzidas as expressões correspondentes às fracções molares das três espécies em equilíbrio:

$$\frac{[AH^+]}{[AH^+] + [A] + [A^-]} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K_{a1} \times [H^+] + K_{a1} \times K_{a2}} \quad (2.5)$$

$$\frac{[A]}{[AH^+] + [A] + [A^-]} = \frac{K_{a1} \times [H^+]}{[H^+]^2 + K_{a1} \times [H^+] + K_{a1} \times K_{a2}} \quad (2.6)$$

$$\frac{[A^-]}{[AH^+] + [A] + [A^-]} = \frac{K_{a1} \times K_{a2}}{[H^+]^2 + K_{a1} \times [H^+] + K_{a1} \times K_{a2}} \quad (2.7)$$

O assentamento das equações anteriores, correspondentes às fracções molares das espécies, sobre a variação da absorvância a 405nm e a 470nm com o pH (figura 2.5), permite a determinação de $pK_{a1}=4.35$ ($K_{a1}=4.5 \times 10^{-5}$) e de $pK_{a2}=7.0$ ($K_{a2}=10^{-7}$).

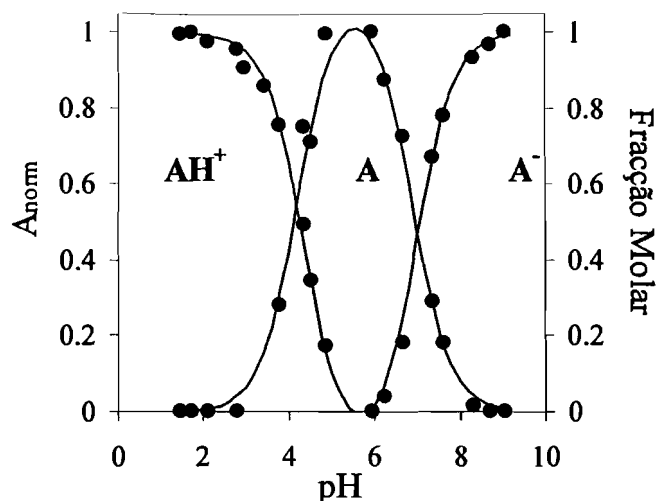
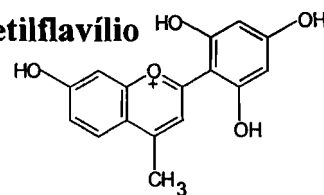


Figura 2.5 –Representação da absorvância normalizada a 405nm e 470nm e frações molares das espécies para o 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio. O assentamento nos pontos experimentais foi conseguido com $pK_{a1}=4.35$ e $pK_{a2}=7.0$.

2.4.Perclorato de 7, 2', 4', 6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio



Na figura 2.6 estão representados os espectros de absorção UV/Vis do perclorato de 7, 2', 4', 6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio em solução aquosa entre pH 1.50 e pH 9.16. Nesses espectros é visível a pH muito ácido a presença inicial de uma banda a 440nm correspondente ao catião flavílio ($\epsilon=23450M^{-1}cm^{-1}$), que decresce à medida que o pH aumenta até 6.50 dando origem a uma banda de menor intensidade a 465nm, presumivelmente correspondente à base quinoidal. A partir de pH 6.50 a banda a 465nm evolui para uma nova banda a 490nm com o aumento do pH até 9.16, devido à desprotonação da base quinoidal.

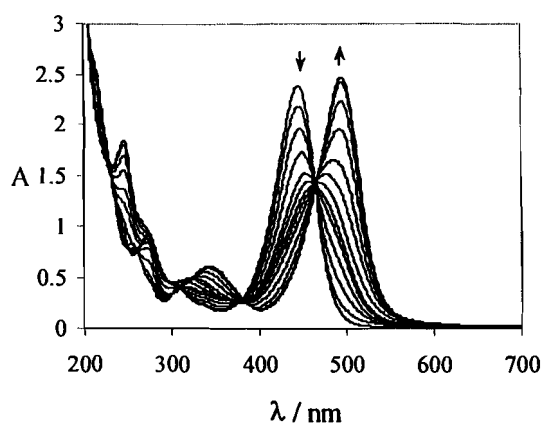


Figura 2.6 – Espectros de absorção de um solução aquosa de perclorato de 7, 2', 4', 6'-tetrahydroxi-4-metilflavílio 10^{-4} M em função do pH: 1.50, 3.99, 4.57, 4.98, 5.43, 5.90, 6.50, 7.13, 7.54, 7.95, 8.21, 8.53, 9.16.

Na figura 2.7, a valores de pH entre 9.16 e 13.59 é possível detectar o desvio do máximo da banda de absorção de 490nm para 498nm concomitantemente com um decréscimo da sua intensidade. Esta variação pode ser atribuída à desprotonação da anteriormente obtida base quinoidal mono-ionizada que passa a di-ionizada.

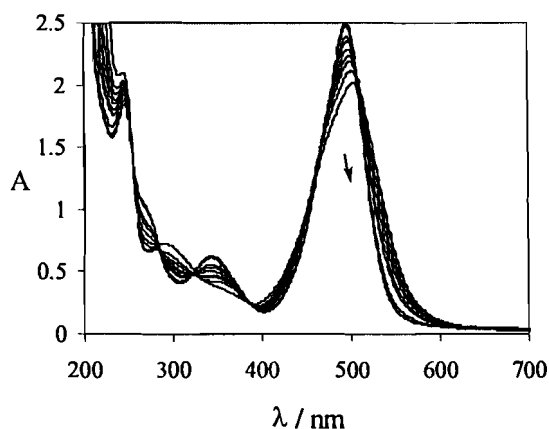
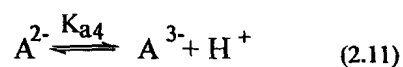
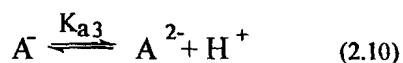
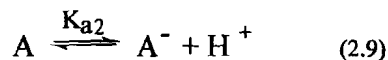
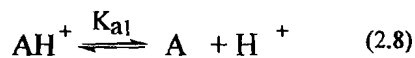


Figura 2.7 – Espectros de absorção de um solução aquosa de perclorato de 7, 2', 4', 6'-tetrahydroxi-4-metilflavílio 10^{-4} M em função do pH: 9.16, 10.04, 11.27, 11.81, 11.97, 12.20, 12.42, 12.62, 12.99, 13.59.

Esta maior complexidade na variação dos espectros de absorção já era esperada para este composto, uma vez que apesar de só apresentar equilíbrio ácido-base a presença de quatro hidroxilos substituídos permite a existência de cinco espécies:



De forma análoga à dedução das expressões correspondentes às fracções molares para caso do 5,7-dihidroxiavilíio (equações (2.5), (2.6) e (2.7)), são facilmente deduzidas neste caso as expressões das fracções molares de AH^+ , A , A^- , A^{2-} e A^{3-} . O assentamento das expressões obtidas para as fracções molares destas cinco espécies, sobre a variação da absorção a 500nm com o pH (figura 2.8), permite a determinação de: $\text{pK}_{a1}=4.65$ ($K_{a1}=2.2 \times 10^{-5}$), $\text{pK}_{a2}=7.50$ ($K_{a2}=3.2 \times 10^{-8}$), $\text{pK}_{a3}=11.90$ ($K_{a3}=1.3 \times 10^{-12}$), $\text{pK}_{a4}=13.60$ ($K_{a4}=2.5 \times 10^{-14}$).

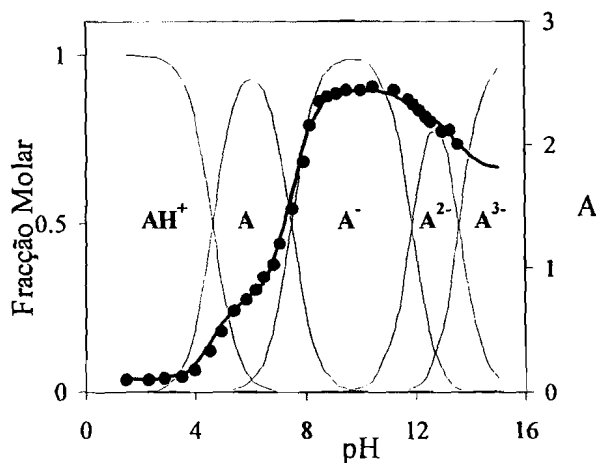


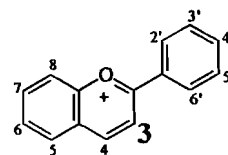
Figura 2.8 – Representação da absorvância lida a 500nm e das fracções molares das espécies presentes no 7, 2', 4', 6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio. O assentamento da curva foi conseguido com $\text{pK}_{a1}=4.65$, $\text{pK}_{a2}=7.50$, $\text{pK}_{a3}=11.90$, $\text{pK}_{a4}=13.60$.

2.5. Conclusão

Nos compostos substituídos na posição 4 com um grupo metilo estudados neste capítulo apenas é possível detectar em meio ácido e neutro a existência de catião flavílio e de base quinoidal. A pH mais elevado observam-se bases quinoidais ionizadas se o número de hidroxilos o permitir, mas não se detectam formas ionizadas de outras espécies. Este comportamento deve-se ao facto da substituição na posição 4 dificultar^[35-42] ou mesmo impedir neste caso a hidratação que conduz ao hemiacetal e posteriormente às chalconas.

No que diz respeito às constantes de protonação, no caso do 7-hidroxi-4-metilflavílio foi determinado um pK_a de 4.3 para o hidroxilo substituído na posição 7. Para o 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio foi encontrado um primeiro pK_{a1} de 4.35 e um segundo pK_{a2} de 7, atribuídos aos hidroxilos nas posições 7 e 5 respectivamente, por comparação com o 7-hidroxi-4-metilflavílio. No caso do 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio são determinados $pK_{a1}=4.65$ e $pK_{a2}=7.50$ atribuídos respectivamente aos hidroxilos nas posições 7 e 4' por analogia com os pK_a de 4.0 e 8.0 determinados na literatura para o 7,4'-dihidroxi-4-metilflavílio.^[44] Para além destes foram determinados ainda $pK_{a3}=11.9$ e $pK_{a4}=13.6$ respeitantes aos hidroxilos nas posições 2' e 6' indistinguíveis.

Capítulo 3. Flavílios substituídos na posição 3.



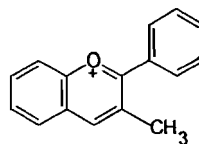
3.1.Introdução

A maioria das antocianinas naturais apresenta a posição 3 (e 5) substituída com um grupo hidroxilo ligado a um açúcar ou no caso das antocianidinas um grupo hidroxilo livre. Em 1965 *Timberlake* e *Bridle* verificaram que enquanto uma antocianina a pH fracamente ácido ou neutro gerava uma forma incolor que por reacidificação recuperava totalmente a cor, a correspondente antocianidina após gerar a forma incolor era incapaz de regenerar a cor inicial.^[45] Este facto foi atribuído à ocorrência de processos de degradação das formas incolores, sendo desde logo a presença de um açúcar ligado ao hidroxilo na posição 3 considerada um modo de aumentar a estabilidade das antocianinas. Ao longo do tempo foram desenvolvidos mais estudos sobre a degradação de antocianidinas que não só comprovaram esta primeira conclusão,^[46] como mostraram que a metilação do hidroxilo substituído na posição 3 também conduzia a um acréscimo de estabilidade.^[31]

A substituição das antocianinas na posição 3 também se reflecte na razão de equilíbrio das espécies resultantes das suas transformações estruturais, sendo a espécie maioritária o hemiacetal,^[47,48] ao contrário do que sucede com os flavílios que não apresentam substituição nesta posição.^[21-23] Do mesmo modo se verifica que flavílios sintéticos substituídos na posição 3 com um grupo metilo ou metoxilo se comportam como as antocianinas, apresentando também como espécie maioritária o hemiacetal.^[49,50]

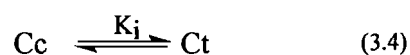
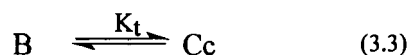
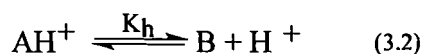
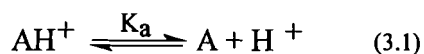
Este capítulo é dedicado ao estudo de flavílios substituídos na posição 3 que tipicamente apresentam maioritariamente hemiacetal (B) no equilíbrio, constituindo uma família distinta dos flavílios substituídos na posição 4 que apresentam como espécie maioritária a base (A) e dos flavílios não substituídos em nenhuma das posições anteriores que apresentam como espécie maioritária a chalcona *trans* (Ct).

3.2. Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio

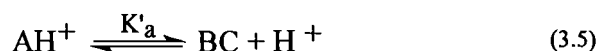


3.2.1. Soluções equilibradas

Geralmente em meio ácido ou neutro, um catião flavílio pode sofrer alterações estruturais que levem à formação de: base, por perda de protão se há um grupo hidroxilo presente; hemiacetal, por hidratação do catião; chalcona *cis*, por tautomerização do hemiacetal; chalcona *trans*, por isomerização da chalcona *cis*. Em seguida são apresentados os respectivos equilíbrios:



Este conjunto de equilíbrios pode ser simplificado a um simples equilíbrio ácido-base (3.5), em que o catião flavílio (AH^+) se encontra em equilíbrio com a base conjugada (BC) constituída pela base (A), hemiacetal (B) e chalconas (Cc, Ct):



Em que K'_a , pode ser deduzido em função de K_a , K_h , K_t e K_i (ver apêndice 2):

$$K'_a = K_a + K_h + K_h \times K_t + K_h \times K_t \times K_i \quad (3.6)$$

Os espectros de U.V.-vis. de uma solução aquosa de tetrafluoroborato de 3-metilflavílio equilibrados no escuro estão representados na figura 3.1. A análise desses espectros mostra a pH 0.8 a banda de absorção característica do catião flavílio a 385nm ($\epsilon=13924M^{-1}cm^{-1}$) que desaparece à medida que o pH aumenta até pH 3, dando origem a um espectro de absorção que se mantém constante até pH 9.5. A forma deste espectro é

compatível com a existência de hemiacetal e chalcona *cis*, mas não evidencia existência de chalcona *trans*.

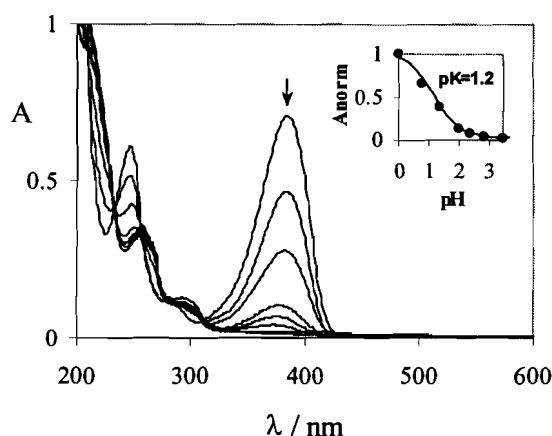


Figura 3.1 – Espectros de absorção de um solução aquosa de tetrafluoroborato de 3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ em função do pH: 0, 0.8, 1.36, 2.0, 2.38, 2.87, 3.5, 3.84, 6.6, 9.9. Na inserção está a absorvância a 385nm normalizada em função do pH.

Por experiências de ^1H RMN é possível verificar que a pD[§] 8 os sinais característicos do catião flavílio detectados a pD 0 ($[\text{DCI}]=1\text{M}$) desaparecem, dando origem a um único conjunto de picos compatível com a existência de B e/ou Cc dado estas espécies existirem em equilíbrio rápido na escala de RMN, mas incompatível com a existência de uma terceira espécie Ct (figura 3.2).

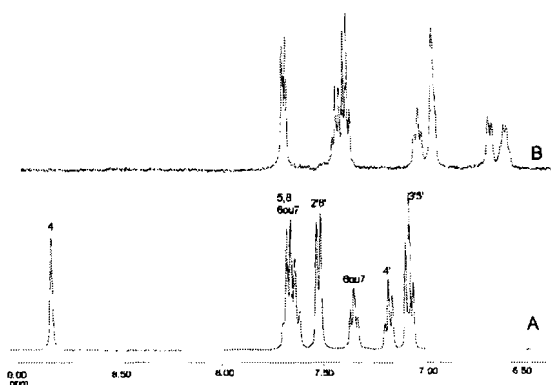


Figura 3.2 – Espectros de ^1H RMN do 3-metilflavílio a pD 0 (A) e pD 8 (B).

[§] Ao longo desta tese quando é referido pD em experiências de ^1H RMN, trata-se do valor não corrigido medido no potenciômetro para a solução em D_2O . Para obter o pH é usada a relação $\text{pH}=\text{pD}-0.41$ ^[51].

Também é interessante notar que o espectro de absorção que se obtém imediatamente entre pH 3 e pH 9.5 se mantém praticamente invariável durante cerca de 15 dias à temperatura ambiente ou 6 dias a 60°C. Ou seja não é possível detectar o aparecimento de Ct durante este longo período. Tendo em conta o trabalho que McClelland desenvolveu com este composto,^[50] em que seguindo por técnica de fluxo interrompido saltos reversos de pH de soluções equilibradas em meio neutro para meio ácido, verifica que o processo de regeneração de catião flavílio procede com uma única cinética de primeira ordem, é possível concluir que neste caso a base conjugada (BC) é unicamente constituída por hemiacetal, fazendo com que K'_a se reduza aproximadamente a K_h e seja igual a $10^{-1.2}$, obtido da representação da absorvância a 385nm em função do pH (inserção figura 3.1).

3.2.2. Soluções não equilibradas

Ao contrário do que acontece até pH 9.5 onde o equilíbrio é atingido imediatamente, a pH superior a este valor verifica-se a formação imediata de uma nova banda de absorção a cerca de 390nm que aumenta à medida que o pH aumenta até 11.8 (figura 3.3). O aparecimento desta banda pode ser atribuída à formação de chalcona *cis* ionizada, termodinamicamente mais acessível do que a chalcona *cis* a este pH.

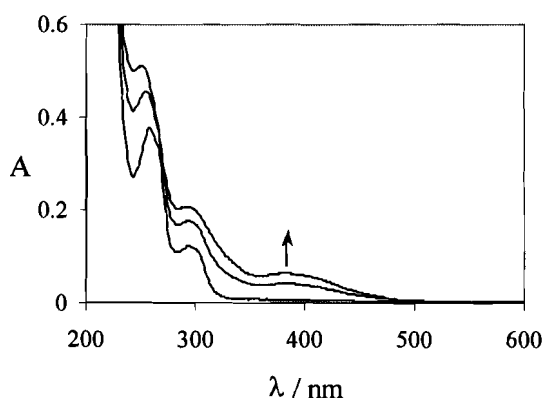


Figura 3.3 – Espectros de absorção de um solução aquosa de tetrafluoroborato de 3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ em função do pH: 9.55, 10.48, 11.83.

No entanto, esta última forma (Cc^-) não é termodinamicamente favorável e isomeriza lentamente a chalcona *trans* ionizada, como é possível ver pelo aumento da intensidade da banda a 390nm na figura 3.4.

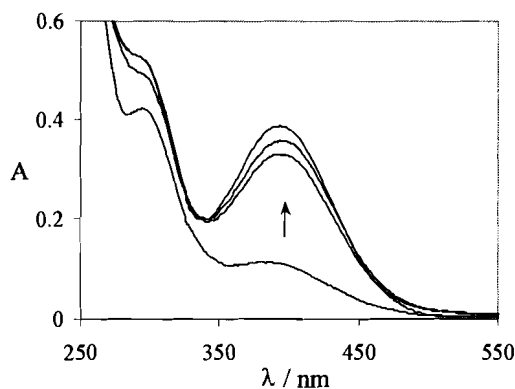


Figura 3.4 - Espectros de absorção de um solução aquosa de 3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} M$ a pH 12.5 (60°C) em função do tempo: 0h, 1.5h, 2h, 6.5h.

Se a isomerização de Cc^- a Ct^- for seguida a diversas temperaturas, como representado na figura 3.5 para pH 12.5, obtém-se uma cinética de primeira ordem em que a constante observada varia: $0.40 h^{-1}$, $0.87 h^{-1}$ e $1.46 h^{-1}$ a 50°C, 60°C e 65°C respectivamente. Tendo em conta a equação de Arrhenius,

$$k = A \times e^{\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}} \quad (3.7)$$

o declive da recta que se obtém por representação gráfica de $\ln(k_{obs})$ em função de $1/T$ (K^{-1}) permite calcular o valor da energia de activação do processo. Neste caso determina-se uma energia de activação de 75 kJmol^{-1} para a barreira entre as formas ionizadas das chalconas *cis* e *trans*.

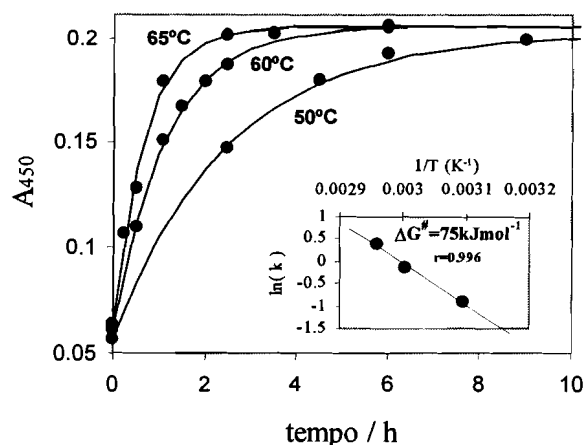
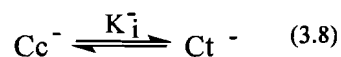


Figura 3.5 – Variação da absorvância a 450nm de uma solução aquosa de 3-metilflavílio $2.5 \times 10^{-5} \text{M}$ após um salto de pH 1 para 12.5, a diversas temperaturas. Na inserção o gráfico de Arrhenius com $\Delta G^\ddagger = 75 \text{ kJ mol}^{-1}$.

Após uma solução aquosa de 3-metilflavílio ter estabilizado 15 dias a pH 12.5, um salto reverso para pH 0 ($[\text{HCl}] = 1 \text{M}$) leva ao reaparecimento de catião flavílio em dois passos com tempos de vida distintos: imediatamente após o salto e ao longo de várias horas a alta temperatura. No primeiro processo imediatamente após reacidificação o espectro de absorção mostra uma banda a 320nm característica da chalcona *trans* e uma banda a 385nm cuja intensidade corresponde a 13% de catião flavílio. Tendo em conta que a quantidade de flavílio regenerada imediatamente provém da chalcona *cis* ionizada, é possível calcular a constante de equilíbrio $K_i^- = 6.7$, para o equilíbrio (3.8).



Por outro lado, no segundo processo ao longo de várias horas a alta temperatura a chalcona *trans* isomeriza a chalcona *cis* a pH 0 ($[\text{HCl}] = 1 \text{M}$), permitindo recuperar a totalidade do catião flavílio. Se este processo for seguido a diversas temperaturas (figura 3.6), determina-se uma cinética de primeira ordem com constantes observadas de 0.075h^{-1} , 0.225h^{-1} e 0.5h^{-1} para 50°C , 60°C e 65°C . Admitindo que a velocidade deste processo é determinada pela isomerização, tal como no caso anterior é possível através

da equação de Arrhenius (3.7) determinar uma barreira de activação para a isomerização da chalcona de 110 kJmol^{-1} (inserção na figura 3.6).

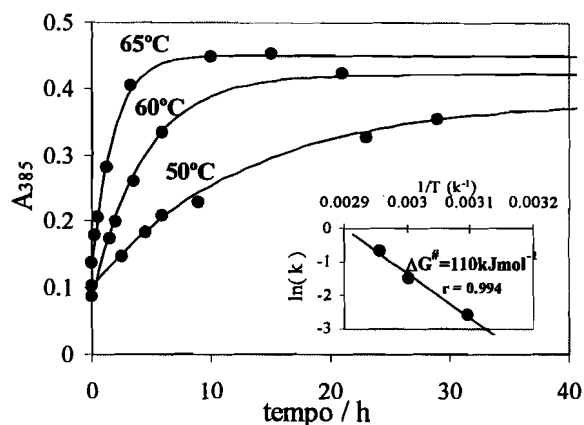


Figura 3.6 – Variação da absorvância a 385nm após um salto de uma solução aquosa de 3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ equilibrada a pH 12.5 para pH 1, a diversas temperaturas. Na inserção o gráfico de Arrhenius com $\Delta G^\ddagger = 110 \text{ kJmol}^{-1}$.

Se a solução aquosa de 3-metilflavílio estabilizada 15 dias a pH 12.5, for reacidificada para pH 6, verifica-se o aparecimento inicial do espectro da chalcona *trans*, compatível com a coexistência de algum hemiacetal. Se esta solução for aquecida a 60°C verifica-se que a banda da chalcona *trans* decresce até estabilizar, na razão de equilíbrio para este pH. A cinética de primeira ordem do decréscimo da chalcona *trans* (figura 3.7) apresenta uma constante observada de 0.228 h^{-1} , compatível com a constante de 0.225 h^{-1} determinada anteriormente para a isomerização a 60°C e pH 1.

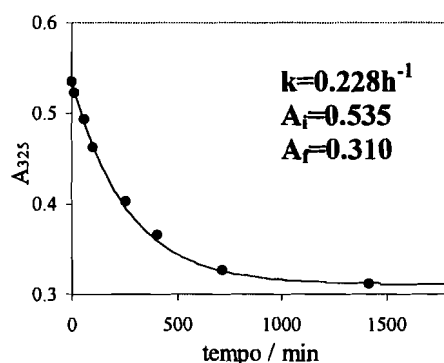


Figura 3.7 – Variação da absorvância lida a 325nm após um salto de uma solução de 3-metilflavílio $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ equilibrada a pH 12.5 para pH 6, a 60°C.

Da variação entre a absorvância inicial (87%) e a absorvância final (50.5%) a 325nm representada na figura 3.7 é ainda possível calcular que no equilíbrio (pH 6) existem 50.5% de chalcona *trans* e 49.5% de hemiacetal.

É de notar que neste momento estamos perante uma aparente contradição: é possível obter catião flavílio ou hemiacetal a partir de chalcona *trans* (via chalcona *cis*), mas não é possível detectar a formação de chalcona *trans* a partir de catião flavílio após um salto de pH 0 para a região de pH de 3 a 9.5, à mesma temperatura e após idêntico período de tempo. Este facto deve-se à constante de equilíbrio do equilíbrio (3.3) favorecer o hemiacetal às custas da chalcona *cis*, como se verifica noutros compostos substituídos na posição 3,^[47-50] provocando um intenso decréscimo da constante de velocidade da isomerização *cis-trans* que é dependente da concentração de chalcona *cis*. Por este motivo a maneira eficiente de obter chalcona *trans* é por reacidificação da chalcona *trans* ionizada, facilmente obtida por isomerização da chalcona *cis* ionizada a pH 12.5.

Com toda a informação que foi recolhida até aqui sobre este sistema é possível construir um diagrama de níveis termodinâmicos para as várias espécies, representado na figura 3.8, que permite uma melhor visualização do sistema.

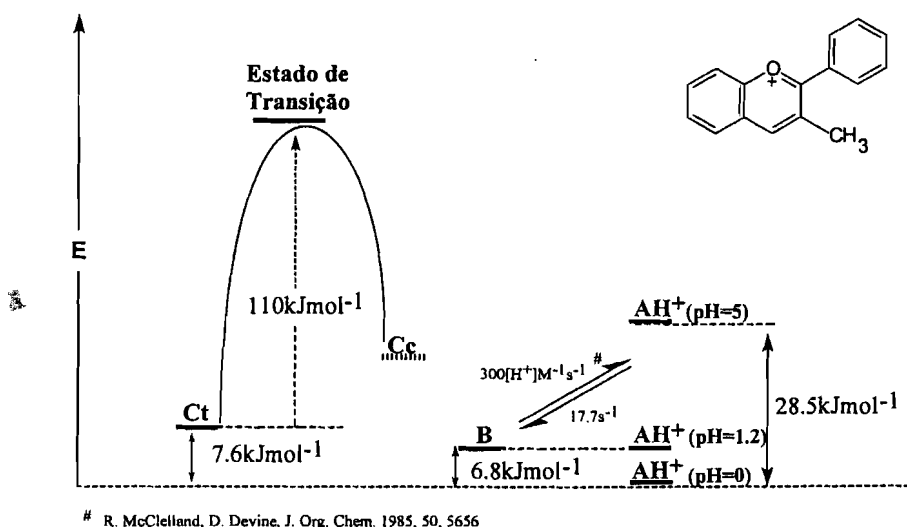


Figura 3.8 – Esquema cinético e termodinâmico para o 3-metilflavílio.

3.2.3. Reactividade fotoquímica

Uma solução de aquosa de 3-metilflavílio entre pH 3 e 9.5 constituída por hemiacetal não apresenta qualquer reatividade fotoquímica, mostrando que também por esta via não é possível obter chalconas a partir de hemiacetal.

Quando uma solução de 3-metilflavílio equilibrada no escuro a pH 11.85 é irradiada a 313nm é observado um decréscimo de intensidade da banda a 390nm, correspondente à isomerização de chalcona *trans* ionizada a chalcona *cis* ionizada, num processo oposto ao termodinâmico com um rendimento quântico de 0.043, figura 3.9. A reacidação desta solução irradiada para pH 0 ([HCl]=1M) leva à imediata formação de 42% de catião flavílio. Posterior irradiação desta solução só permite recuperar 60% de catião flavílio, o que mostra que o processo irradiativo provoca degradação.

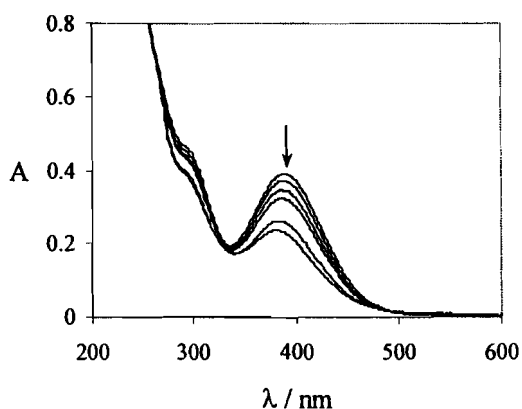


Figura 3.9– Irradiação a 311nm de uma solução $5 \times 10^{-5} \text{M}$ de 3-metilflavílio equilibrada a pH 11.85. Tempo de irradiação: 0min, 1min, 3min, 5min, 13min, 24min.

Quando uma solução previamente equilibrada a pH 11.85 é reacidificada para pH 0 ([HCl]=1M) onde exibe 87% de Ct e 13% de AH^+ e posteriormente irradiada a 313nm, é visível o aumento do catião flavílio com um rendimento quântico de 0.5, figura 3.10. No entanto apenas é possível recuperar 94% de AH^+ no final, o que mais uma vez indica

a existência de fotodegradação. Mais ainda, a irradiação de uma solução de 3-metilflavílio a pH 0 preparada de fresco, também exhibe fotodegradação.

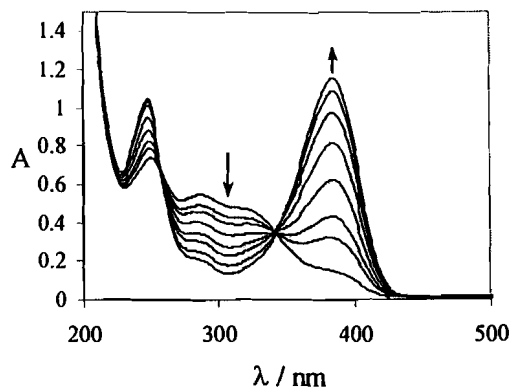


Figura 3.10 – Irradiação de uma solução de 3-metilflavílio $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ a 311 nm após um salto de pH de pH 11.85 para pH 1. Tempo de irradiação: 0 min, 0.25 min, 0.5 min, 1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min.

Se uma solução previamente equilibrada a pH 11.85 for reacidificada para pH 6.2 onde exhibe 87% de Ct e 13% de B e posteriormente irradiada a 313 nm, é visível o desaparecimento da Ct com um rendimento quântico de 0.18, figura 3.11. No entanto também neste caso existe fotodegradação.

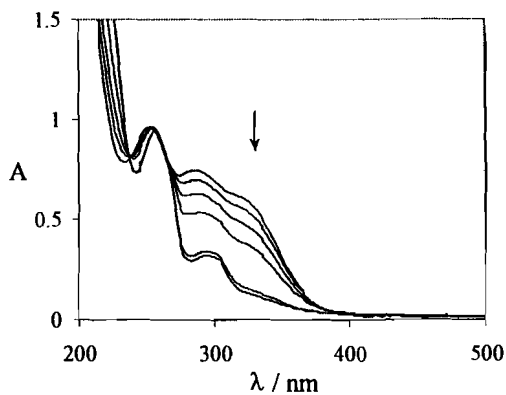
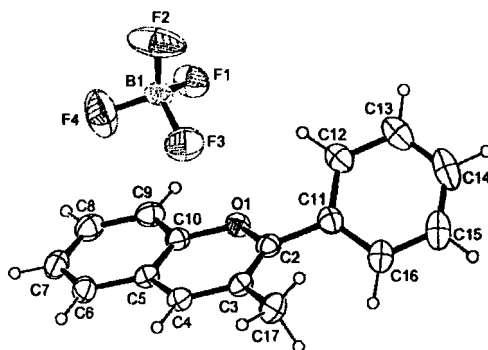


Figura 3.11 – Irradiação a 313 nm de uma solução de 3-metilflavílio 10^{-4} M a pH 6.2. Tempo de irradiação: 0 min, 0.25 min, 0.5 min, 1 min, 2 min, 12 min.

3.2.4. Estrutura cristalina

A obtenção de cristais do composto tetrafluoroborato de 3-metilflavílio permitiu através de difracção de raios-X^{*} ter acesso à sua estrutura, esquema 3.1.



Esquema 3.1

Os ângulos de torção apresentados na tabela 3.1 mostram que o anel B se apresenta com um ângulo de cerca de 40° relativamente ao plano dos anéis A e C. Este ângulo é bastante elevado quando comparado com o mesmo ângulo nos flavílios não substituídos na posição 3 (5.9°) e com os flavílios com um substituinte hidroxilo nesta mesma posição (10.1°).^[50] Este resultado mostra que a substituição de um grupo metilo na posição 3 conduz a um afastamento da planaridade do anel B relativamente aos outros anéis, diminuindo a estabilização da carga positiva do catião.

Tabela 3.1^{*}

	Ângulo de Torção
O(1) - C(2) - C(11) - C(16)	141.5(2)°
C(3) - C(2) - C(11) - C(16)	40.4(3)°
O(1) - C(2) - C(11) - C(12)	36.4(3)°
C(3) - C(2) - C(11) - C(12)	141.6(2)°

^{*} A estrutura cristalográfica deste composto foi obtida na Unidade de Raios X da Universidade Santiago de Compostela.

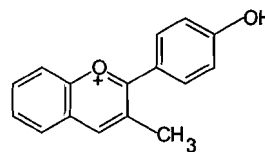
^{*} Nesta tabela apenas se encontram representados os ângulos de torção envolvendo o plano do anel B com os restantes anéis, dado serem os únicos relevantes para a discussão.

3.2.5. Conclusão

A introdução de um grupo metilo na posição 3 causa uma diminuição da estabilidade termodinâmica do catião flavílio face às outras formas, que é visível no valor do K'_a de 6.3×10^{-2} , cerca de duas ordens de grandeza superior ao do flavílio não substituído.^[50] Esta instabilização do catião do 3-metilflavílio deve-se provavelmente à elevada proximidade do grupo metilo na posição 3 ao hidrogénio na posição 2' (6') dificultar a coplanaridade entre os anéis B e C diminuindo a deslocalização da carga positiva do catião. De facto, o ângulo entre os anéis B e C que é de 5.9° nos flavílios não substituídos na posição 3 e de 10.1° nos flavílios com um grupo hidroxilo substituído nesta posição,^[50] aumenta para cerca de 40° quando esta posição se encontra ocupada por um grupo metilo. Esta conclusão é apoiada pelo estudo de McClelland que ao substituir o grupo metilo na posição 3 por uma ponte de etileno entre esta posição e a posição 2' obrigando à coplanaridade dos anéis, obteve um K'_a de 1.26×10^{-5} .^[50]

O tetrafluoroborato de 3-metilflavílio em meio ácido ou neutro não apresenta quer chalcona *cis* quer chalcona *trans* no equilíbrio, que se estabelece exclusivamente entre o catião flavílio e o hemiacetal com $K_h = 6.3 \times 10^{-2}$. Mais ainda, não é possível a partir do hemiacetal obter chalconas termica ou fotoquimicamente. No entanto em meio básico é possível obter a chalcona *trans* ionizada como produto maioritário (87%) e a partir desta por reacidificação aceder à chalcona *trans*. Por sua vez a chalcona *trans* obtida pode gerar hemiacetal (via Cc) termica e fotoquimicamente, evidenciando que o impedimento da reacção inversa se prende com a inexistência de Cc no equilíbrio que não permite a formação de Ct. Apesar de ser comum em compostos substituídos na posição 3 a espécie maioritária no equilíbrio ser o hemiacetal, existem geralmente uma ou mais espécies minoritárias,^[47-50] pelo que o 3-metilflavílio pode ser considerado um caso emblemático do efeito da substituição na posição 3.

3.3. Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio



3.3.1. Soluções equilibradas

Na figura 3.12 encontram-se os espectros de absorção de U.V.-vis. de soluções aquosas de cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ equilibradas no escuro em meio ácido e neutro. Nesta figura é possível ver a pH 0.85 a banda de absorção característica do catião flavílio ($\epsilon = 29800 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) que decresce à medida que o pH aumenta. O espectro de absorção obtido entre pH 3.76 e 6.21 é compatível com a existência de hemicetal e Cc, mas não com base e chalcona *trans* cujos espectros característicos não são detectados.

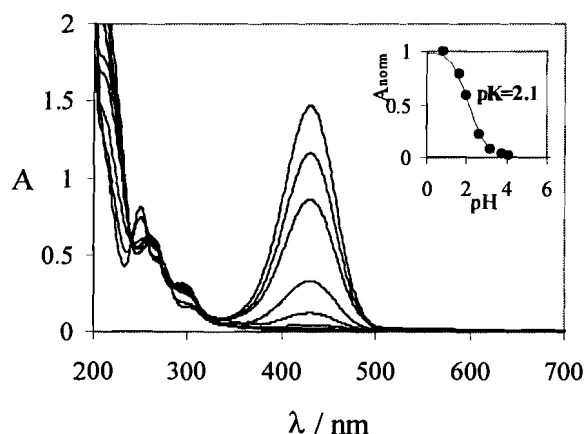


Figura 3.12 – Espectros de absorção de uma solução de cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ em função do pH: 0.85, 1.68, 1.96, 2.59, 3.17, 3.76, 4.15, 6.21. Na inserção representa-se a absorvância a 425nm normalizada *versus* pH.

Experiências de $^1\text{HRMN}$ em soluções equilibradas entre pD 1 e pD 3.85 mostram que os sinais que aparecem a pD 1 atribuíveis ao catião flavílio mantêm os mesmos desvios químicos com o aumento do pH, diminuindo apenas de intensidade à medida que aparece um novo e único conjunto de sinais atribuíveis a hemicetal e/ou chalcona *cis*, ver figura 3.13 e tabela 3.1. Estas últimas espécies habitualmente estão em equilíbrio rápido e por isso não é possível distingui-las em RMN. O facto do desvio químico dos sinais do catião flavílio ser constante com o aumento do pH confirma a inexistência de base no

equilíbrio, caso contrário a sua presença seria detectada por um desvio dos sinais ao longo do pH proporcional ao seu aumento. Por outro lado o aparecimento de um único conjunto de sinais com o aumento do pH mostra que não existem chalconas *cis* e *trans* em equilíbrio, mas apenas uma delas, dado estas serem facilmente distinguíveis em RMN. Por fim o desvio químico do protão 4 inferior ao desvio de todos os outros protões, permite confirmar que não existe chalcona *trans*, como se previa por espectrofotometria, uma vez que no isómero *trans* este protão aparece tipicamente a campo mais baixo que os outros protões.

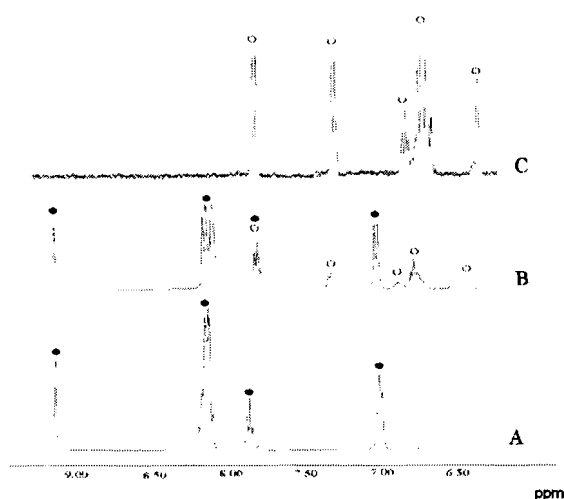


Figura 3.13 – Espectros de ^1H RMN a pD 1.01 (A), 1.95 (B) e 3.85 (C). (●) catião flavílio, (○) hemiacetal e chalcona *cis*.

Na tabela 3.2 estão representadas, para além dos desvios químicos, as percentagens das espécies presentes calculadas a partir das áreas de integração dos respectivos sinais. A partir destes valores é possível determinar um pK'_a de 2.0, bastante aproximado ao valor 2.1 determinado por espectrofotometria. Atendendo a que no equilíbrio só existe AH^+ , B e Cc, K'_a é dado por $K_h + K_h K_t$ (equação (3.6)) e igual a 7.9×10^{-3} .

Tabela 3.2

	pD pH ^[51]	1.01	1.49	1.95	2.18	3.85
		0.6	1.08	1.54	1.77	3.44
AH⁺	δ_4 (ppm)	9.11	9.10	9.11	9.11	-
	$\delta_{5,8,6ou7}$ (ppm)	8.10-8.18	8.09-8.16	8.11-8.17	8.12-8.17	-
	$\delta_{2'6'}$ (ppm)	8.10-8.18	8.09-8.16	8.11-8.17	8.12-8.17	-
	δ_{6ou7} (ppm)	7.84	7.84	7.83	7.82	-
	$\delta_{3'5'}$ (ppm)	7.00	7.05	7.05	7.07	-
	%	100	85	70	62	0
B+Cc	$\delta_{2'6'}$ (ppm)	-	7.80	7.81	7.83	7.88
	$\delta_{3'5'}$ (ppm)	-	7.34	7.37	7.38	7.39
	δ_{6ou7} (ppm)	-	6.93	6.94	6.92	6.97
	$\delta_{5,8,6ou7}$ (ppm)	-	6.77-6.83	6.78-6.86	6.78-6.84	6.81-6.89
	δ_4 (ppm)	-	6.47	6.50	6.49	6.53
	%	0	15	30	38	100

As propriedades do 4'-hidroxi-3-metilflavílio também foram exploradas em meio básico, onde é possível ver que o espectro a pH 6.21 correspondente a uma mistura de B e Cc se altera até pH 12, aparecendo uma nova banda a 350nm atribuível à chalcona *cis* ionizada, que aumenta de intensidade com o aumento de pH, figura 3.14.

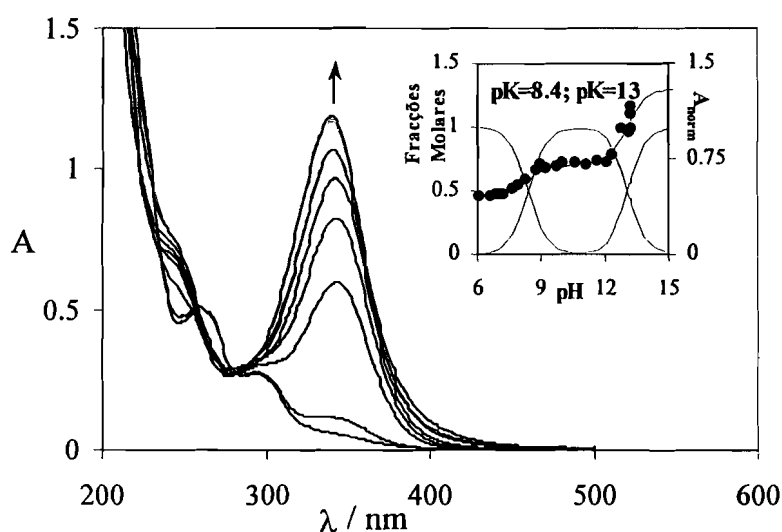


Figura 3.14 – Espectros de absorção de uma solução de cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ em função do pH: 6.1, 7.27, 8.31, 8.71, 9.20, 9.80, 10.0, 12.1. Na inserção representa-se a absorvância a 245nm normalizada *versus* pH.

A banda de absorção a 350nm mantém-se invariável durante pelo menos 5 dias à temperatura ambiente, não apresentando sinais da existência de isomerização que conduza ao isómero *trans*. Este resultado é apoiado pelo facto da reacidificação para pH 1 de uma solução equilibrada durante 24h no escuro a pH 12.5 conduzir de imediato a 100% de catião flavílio. Mais ainda, o espectro de ^1H RMN de uma solução equilibrada 48h a pD 11.5 apenas revela a existência de uma espécie, que será chalcona *cis* ionizada, figura 3.15.

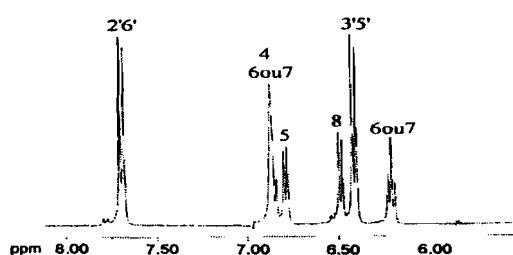
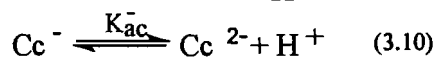
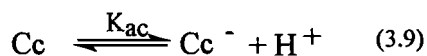


Figura 3.15 – Espectro de ^1H RMN do 4'-hidroxi-3-metilflavílio a pD=11.5 (48h).

Uma vez comprovado que na zona básica apenas existem chalcona *cis* e as suas formas ionizadas, os equilíbrios desta zona resumem-se a:



O assentamento das expressões das fracções molares destas três espécies na variação da absorvância a 245nm, representada na inserção da figura 3.14, permite determinar $\text{p}K_{ac}=8.4$ ($K_{ac}=3.98 \times 10^{-9}$) e $\text{p}K_{ac}^- \geq 13$ ($\text{p}K_{ac}^- \geq 1 \times 10^{-13}$).

3.3.2. Soluções não equilibradas

Quando é levado a cabo um salto de pH de 1 para 7, inicialmente forma-se base quinoidal dado a transferência de protão ocorrer mais rapidamente que a hidratação, mas a base desaparece quase instantaneamente originando hemiacetal em equilíbrio rápido com a chalcona *cis*, atingindo-se de imediato o equilíbrio térmico. Apesar deste equilíbrio se manter invariável por 20 dias à temperatura ambiente, a alta temperatura é visível a formação de chalcona *trans* ao fim de várias horas, ver inserção na figura 3.16.

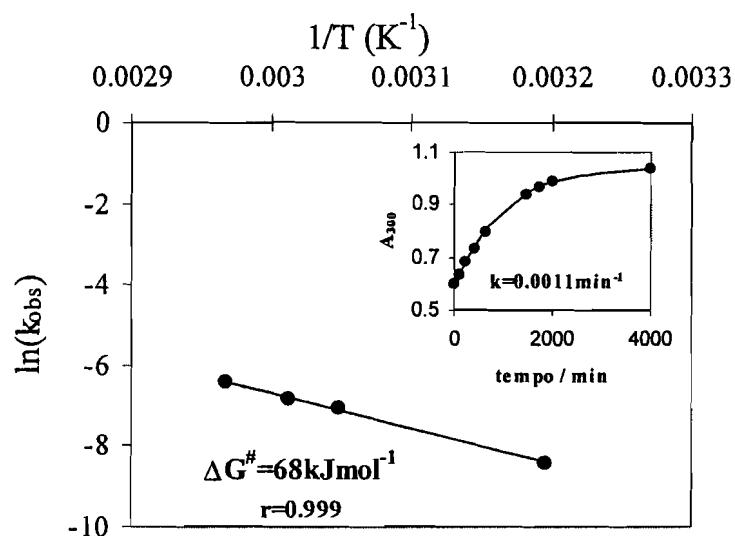


Figura 3.16 – Gráfico de Arrhenius de onde se extrai $\Delta G^\ddagger = 68 \text{ kJ mol}^{-1}$ para a barreira de isomerização de Cc a Ct, para o 4'-hidroxi-3-metilflavílio. Na inserção está representada a absorvância a 300nm após um salto de pH 1 para 4 a 55°C.

Seguindo a formação de Ct a diversas temperaturas determina-se uma cinética de primeira ordem cujas constantes observadas se encontram na tabela 3.3. A partir dessas constantes, é possível através da equação de Arrhenius (3.7) determinar uma barreira de activação para a isomerização *cis-trans* da chalcona de 68 kJ mol^{-1} (figura 3.16).

Quando uma solução contendo chalcona *trans* é acidificada para pH 1 verifica-se que lentamente é regenerado AH^+ com uma cinética de primeira ordem controlada pela

isomerização *trans-cis* da chalcona. Novamente, se a formação de AH^+ for seguida a diversas temperaturas determinam-se as constantes observadas que se encontram na tabela 3.3, a partir das quais, é possível através da equação de Arrhenius (3.7) determinar uma barreira de activação para a isomerização *cis-trans* da chalcona de 65 kJmol^{-1} . Este valor está, dentro do erro experimental deste tipo de determinações, de acordo com o valor anteriormente determinado de 68 kJmol^{-1} . No entanto é de notar que neste caso as constantes de velocidade observadas são cerca de duas vezes superiores às que se detectam na experiência em que se segue a isomerização de Cc a Ct, o que se prende com o facto de haver provavelmente uma baixa quantidade de Cc no equilíbrio.

Tabela 3.3

T / °C	K_{obs} (Cc→Ct) / min^{-1}	K_{obs} (Ct→Cc) / min^{-1}
40	2.2×10^{-4}	4.1×10^{-4}
55	8.5×10^{-4}	15.0×10^{-4}
60	11.1×10^{-4}	22.1×10^{-4}
65	16.0×10^{-4}	25.0×10^{-4}

Em meio básico não é possível determinar a barreira de activação da isomerização *cis-trans* das chalconas ionizadas devido à interferência da degradação destas espécies a temperatura elevada. Nomeadamente após 3 dias a 60°C e pH 11, reacidificação seguida de irradiação apenas permite recuperar 80% de catião flavílio, mostrando que ocorreu 20% de degradação.

Reunindo toda a informação recolhida sobre o comportamento do 4'-hidroxi-3-metilflavílio em meio ácido e neutro é possível construir um diagrama de níveis termodinâmicos para as várias espécies, representado na figura 3.17, que permite uma melhor visualização do sistema.

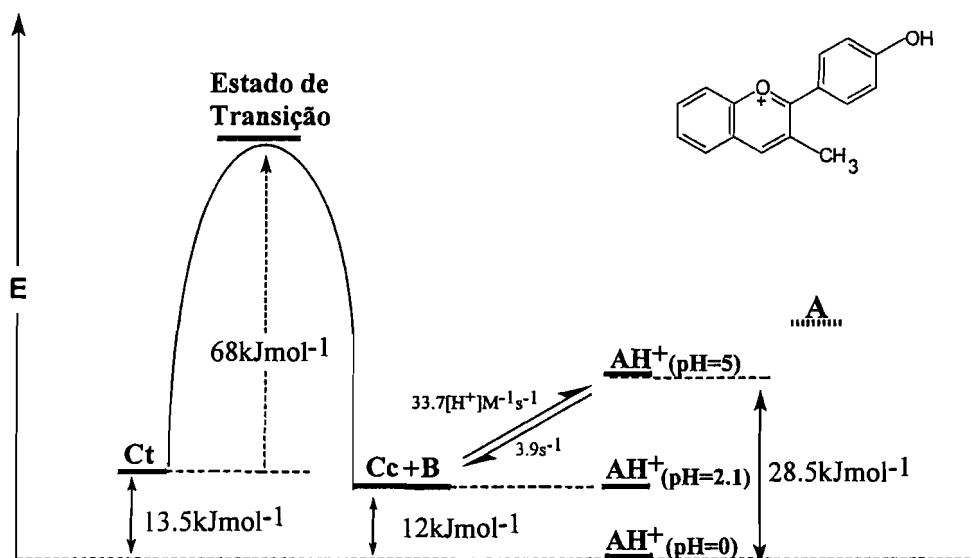


Figura 3.17 – Esquema cinético e termodinâmico para o 4'-hidroxi-3-metilflavílio.

3.3.3. Reactividade fotoquímica

Uma solução aquosa de 4'-hidroxi-3-metilflavílio entre pH 3.5 e 6.5 constituída por hemicetal e chalcona *cis* não apresenta qualquer reactividade fotoquímica, mostrando que por esta via não é possível obter chalcona *trans*.

Quando uma solução de 4'-hidroxi-3-metilflavílio equilibrada a pH 11 é irradiada a 365nm é observado um decréscimo de intensidade da banda a 350nm com três pontos isobésticos, correspondente à isomerização de chalcona *cis* ionizada a chalcona *trans* ionizada com um rendimento quântico de 0.02 até ser obtido um estado fotoestacionário, ver figura 3.18. Este resultado é confirmado quando por reacidificação da solução irradiada se formam imediatamente 40% de catião flavílio e 60% de uma nova espécie cuja banda de absorção a 290nm é característica da chalcona *trans*. Este espectro é razoavelmente estável no escuro, sendo apenas detectável um aumento do AH^+ para 41.5% e 44.2% ao fim de respectivamente 3 e 10 dias à temperatura ambiente. No entanto irradiação a 365nm da anterior mistura ácida de chalcona *trans* e catião flavílio leva ao total desaparecimento de Ct e recuperação de 100% de AH^+ .

Quando soluções de 4'-hidroxi-3-metilflavílio a pH 6 contendo Cc e a pH13.3 contendo Cc^{2-} são irradiadas a 365nm também é visível isomerização, no entanto a conversão *cis-trans* é menor: 14% e 39% respectivamente.

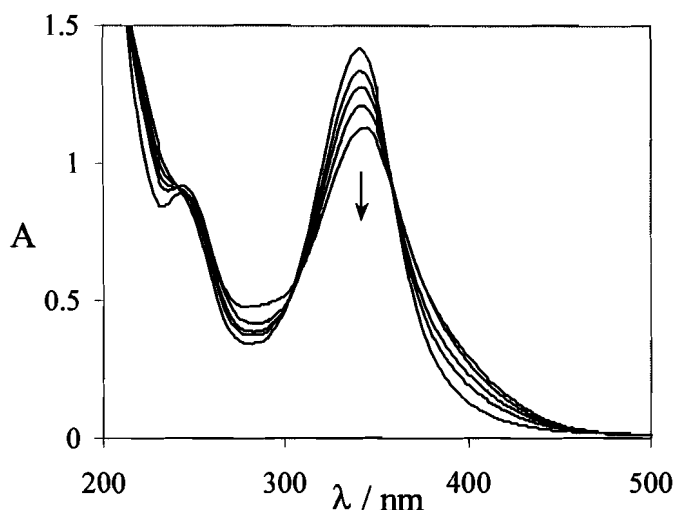


Figura 3.18 – Irradiação a 365nm de uma solução aquosa de cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio a pH 11. Tempo de irradiação: 0min, 20min, 40min, 110min, 290min.

Para determinar o rendimento quântico de formação de AH^+ por irradiação de Ct a pH 1 foi levada a cabo uma separação por HPLC de uma mistura contendo 40% de AH^+ e 60% de Ct (obtida como descrito anteriormente), sendo recolhida no escuro a fracção correspondente a Ct. Deste modo foi calculado um $\Phi=0.15$ a 365nm para a formação de AH^+ a partir de Ct a pH 1, ver figura 3.19. Ao basificar a solução anterior contendo Ct pura, é possível aceder a Ct^- pura e assim por irradiação a 365nm determinar um $\Phi=0.013$ para a formação de Cc^- a partir de Ct^- . A razão $(\Phi(Ct^- \rightarrow Cc^-) \times \epsilon(Ct^-)) / (\Phi(Cc^- \rightarrow Ct^-) \times \epsilon(Cc^-))=1.26$, com $\epsilon(Ct^-)=11255M^{-1}cm^{-1}$ e $\epsilon(Cc^-)=13795M^{-1}cm^{-1}$ a 365nm, está em razoável acordo com o valor com a razão $Ct^-/Cc^-=1.5$ obtido no estado estacionário.

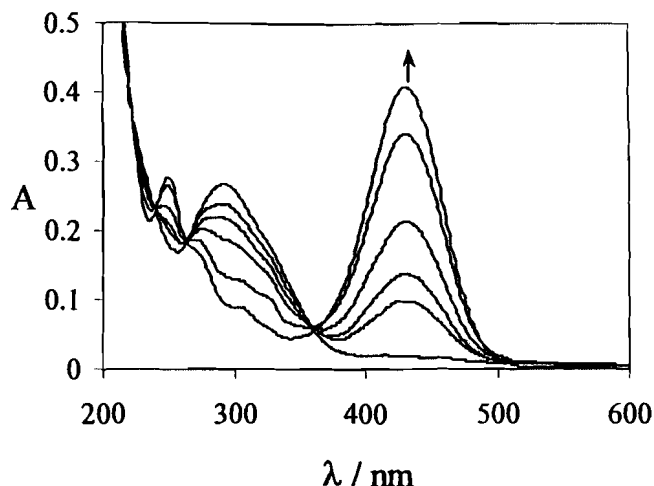
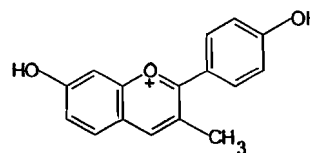


Figura 3.19 – Irradiação a 365nm de uma solução aquosa de cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio contendo chalcona *trans* pura obtida por separação em HPLC. Tempo de irradiação: 0min, 0,5min, 1min, 2min, 5min, 20min.

3.3.4. Conclusão

A introdução de um substituinte hidroxilo na posição 4' do 3-metilflavílio não tem uma influência notória nos equilíbrios estabelecidos em meio ácido ou neutro, onde continua a não existir chalcona *trans* no equilíbrio e a ser impossível gerá-la quer térmica quer fotoquimicamente. Assim, o equilíbrio é estabelecido entre o catião flavílio e uma mistura de hemiacetal e chalcona *cis*, com um K'_a de 7.9×10^{-3} . No entanto em meio básico onde no 3-metilflavílio a isomerização ocorre espontaneamente à temperatura ambiente, no caso do 4'-hidroxi-3-metilflavílio só é possível aceder à forma ionizada da chalcona *trans* fotoquimicamente e numa fracção molar de 0.6 devido à existência de um estado fotoestacionário.

3.4. Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio



3.4.1. Soluções equilibradas

As transformações estruturais que o composto 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio pode sofrer em meio ácido e neutro são as descritas nos equilíbrios 3.1 a 3.4, com a particularidade de ser possível a existência de um maior número de formas ionizadas das várias espécies devido à substituição de dois grupos hidroxilo. Em soluções equilibradas em meio ácido a forma predominante é o catião flavílio cuja banda de absorção a 450nm ($\epsilon=33800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) desaparece à medida que o pH aumenta passando a existir entre pH 4 e 7 uma mistura de base, hemiacetal, chalcona *cis* e chalcona *trans*, cujas bandas de absorção são visíveis na figura 3.20. As frações das várias espécies presentes são calculadas mais à frente, obtendo-se a proporção: 18% A, 38% de B, 20% de Cc e 24% de Ct. A representação da variação da absorvância a 450nm em função do pH leva a uma curva sigmóide de onde é possível retirar $\text{pK}'_a=3.6$ ($\text{K}'_a=2.51\times 10^{-4}$).

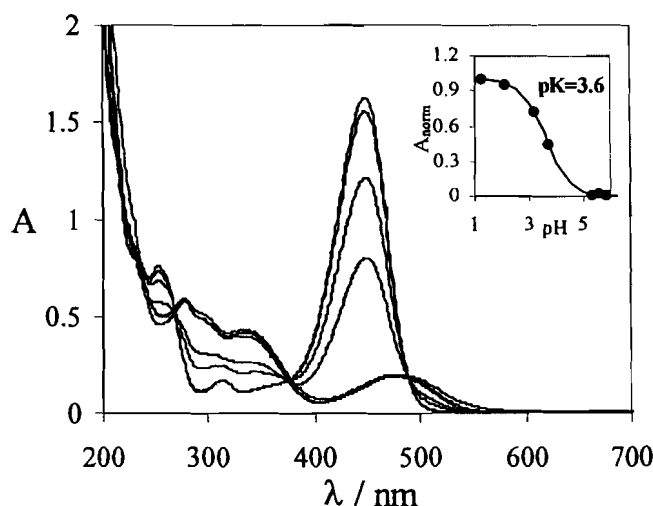


Figura 3.20 – Espectros de absorção de um solução aquosa de cloreto de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio $5\times 10^{-5}\text{M}$ em função do pH: 1.27, 2.15, 3.21, 3.7, 5.35, 5.89, 6.75, 7.05. Na inserção está representada a absorvância a 450nm normalizada em função do pH.

3.4.2. Soluções não equilibradas

Um salto de pH de 1 para 5, representado na figura 3.21, leva inicialmente à formação de base quinoidal uma vez que a transferência de próton é mais rápida que a hidratação, seguida do desaparecimento dessa espécie em cerca de 20 minutos para chegar a um equilíbrio final com cerca de 20% de base, calculada a partir da extrapolação de 100% para o tempo zero da curva cinética assentada nos valores experimentais.

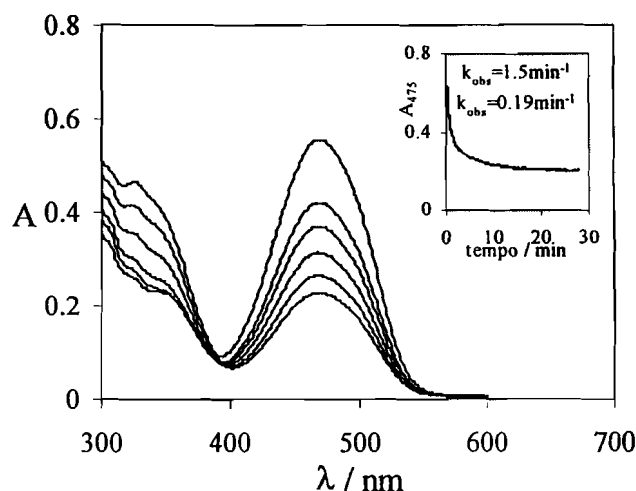


Figura 3.21 – Espectros de absorção de um solução aquosa de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio após um salto de pH de 1 para 5, ao longo do tempo: 0min, 1min, 2.5min, 5min, 10min, 20min. Na inserção encontra-se a absorvância a 475nm.

Diversos saltos de pH de 1 para a região de 3.5 a 5.6 mostram que a base quinoidal A desaparece com dois decaimentos cinéticos: um primeiro dependente do pH e um segundo independente do pH, ver inserção na figura 3.21. Os valores obtidos para as constantes observadas nos dois processos a cada pH estão representados na tabela 3.4. Considerando que o primeiro processo (dependente do pH) corresponde claramente à hidratação e como tal a constante observada corresponde à soma das constantes dos processos directo e inverso, temos:

$$k_{\text{obs}} = k_h + k_{-h} [\text{H}^+] \quad (3.11)$$

A partir da expressão (3.11) representação das constantes observadas para este primeiro processo em função do pH permitem retirar a partir da ordenada na origem e do declive os valores de $k_h=3.9 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ e $k_{-h}=4.08 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente. O segundo processo (independente do pH) corresponde à isomerização *cis-trans* e tem uma constante observada dada por $k_i+k_{-i}=3.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Tabela 3.4

pH	$k_{\text{obs}} / \text{s}^{-1}$	$k_{\text{obs}} / \text{s}^{-1}$
3.4	0.20	0.0032
3.65	0.125	0.0032
3.85	0.10	0.0032
4.43	0.082	0.0032
4.63	0.067	0.0032
4.98	0.025	0.0032
5.6	0.015	0.0032

Para além da informação relativa às constantes de hidratação e de isomerização, os saltos de pH de 1 para 5 e 5.6, zona onde não existe AH^+ no equilíbrio, permitem ainda calcular o K_a através da fracção molar de A do modo seguidamente descrito. Considerando um equilíbrio simplificado entre o catião flavílio (AH^+) e uma base conjugada (BC) constituída pela base (A), hemiacetal (B) e chalconas (Cc, Ct):



Em que K'_a , α' e β' são dados por:

$$K'_a = K_a + K_h + K_h \times K_i + K_h \times K_i \times K_i \quad (3.6)$$

$$\alpha' = \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{AH}^+] + [\text{BC}]} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K'_a} \quad (3.12)$$

$$\beta' = \frac{[\text{BC}]}{[\text{BC}] + [\text{AH}^+]} = \frac{K'_a}{K'_a + [\text{H}^+]} \quad (3.13)$$

A fracção molar de A pode ser obtida do seguinte modo:

$$C_0 = [AH^+] + [A] + [B] + [Cc] + [Cl] = \frac{[A][H^+]}{K_a} + [A] + \frac{[A]K_h}{K_a} + \frac{[A]K_h.K_i}{K_a} + \frac{[A]K_h.K_i.K_i}{K_a} \Leftrightarrow$$

pondo em evidência [A] e rearranjando a equação, vem:

$$\Leftrightarrow \frac{[A]}{C_0} = \frac{K_a}{K_a + [H^+] + K_h + K_h.K_i + K_h.K_i.K_i} = \frac{K_a}{[H^+] + K'_a} = \frac{K_a}{K'_a} \times \frac{K'_a}{[H^+] + K'_a} = \frac{K_a}{K'_a} \times \beta' \quad (3.14)$$

Assim, a valores de pH suficientemente altos para os quais não exista AH^+ ou seja sempre que β' seja 1, a fracção molar de A corresponde à razão K_a / K'_a . Como através dos saltos de pH para 5 e 5.6 foi determinada uma fracção molar de A de 20% e $K'_a = 2.51 \times 10^{-4}$ era já conhecido, é possível determinar $K_a = 5.0 \times 10^{-5}$ ($pK_a = 4.3$).

O estudo das transformações estruturais do 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio em meio básico, mostra que após um salto de pH de 1 para 11 se forma inicialmente base quinoidal ionizada (A^-) com um máximo de absorção a 525nm que desaparece ao longo de 30 minutos até se atingir um equilíbrio sem A^- , ver figura 3.22

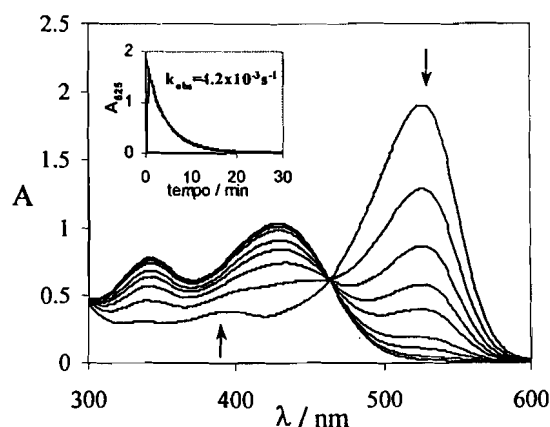


Figura 3.22– Espectros de absorção de uma solução de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio após um salto de pH 1 para 11, ao longo do tempo: 0min, 1min, 2.5min, 3.5min, 5min, 7min, 9min, 17min. Na inserção está representada a absorvância a 525nm.

Este processo segue uma cinética de primeira ordem com uma constante observada de $4.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, visível na inserção da figura 3.22. O equilíbrio atingido mantém-se por cerca de 2 horas, quando se inicia um processo de degradação que atinge os 75% em 3 dias. Um espectro de ^1H RMN de uma solução a pD 11.5 equilibrada durante 30 minutos no escuro mostra que no equilíbrio a este pH só existe chalcona *trans* ionizada, ver figura 3.23.

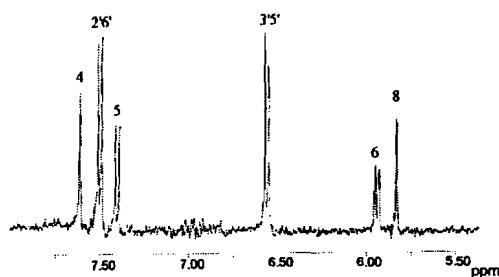


Figura 3.23 – Espectro de ^1H RMN do 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio a pD=11.5.

Um salto de pH reverso de 12 para 1 de uma solução previamente equilibrada no escuro por 30 minutos leva à recuperação de 100% de AH^+ ao fim de 1 hora, como é visível na figura 3.24. Este comportamento mostra que para este composto a barreira de isomerização *cis-trans* da chalcona é muito baixa.

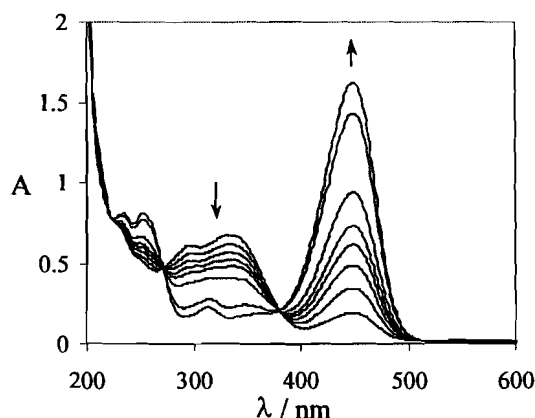


Figura 3.24 - Espectros de absorção de uma solução aquosa de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio após um salto reverso de pH de 12 para 1, ao longo do tempo: 0min, 1min, 2.5min, 3.5min, 5min, 6min, 17min, 22min, 52min.

Uma série de saltos de pH reversos de 11 para a zona de pH entre 1 e 7 mostram que o desaparecimento da Ct e o aparecimento de AH^+ e/ou A se faz em todos os casos através de uma cinética de primeira ordem dependente do pH, cujas constantes observadas ao serem representadas em função de pH dão origem a uma curva em forma de sino apresentada na figura 3.25

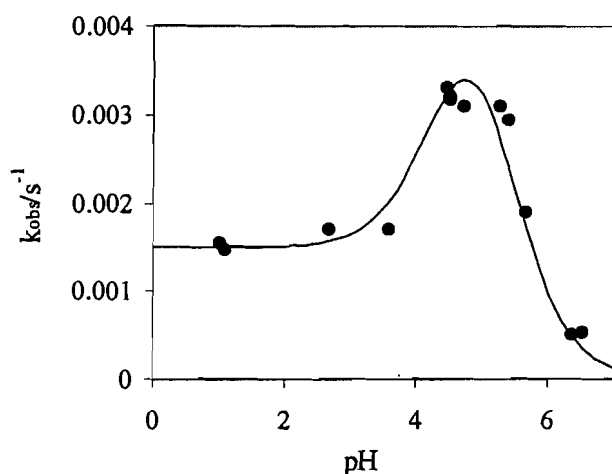
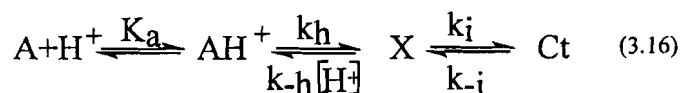


Figura 3.25– Representação da constante observada para a cinética de 1ª ordem correspondente ao salto de pH 12 para um pH inferior, numa solução aquosa de cloreto de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio. O assentamento da curva foi conseguido com $k_h=3.9 \times 10^{-2} s^{-1}$, $k_{-h}=4.1 \times 10^2 M^{-1} s^{-1}$, $k_i=1.8 \times 10^{-3} s^{-1}$, $k_{-i}=1.5 \times 10^{-3} s^{-1}$, $K_a=4.47 \times 10^{-5}$.

O assentamento da curva em forma de sino nos pontos experimentais foi conseguido através da utilização da expressão (3.17)^[52] deduzida^Ψ a partir da hipótese de estado estacionário para a espécie X e considerando que o equilíbrio entre AH^+ e A é de longe o processo mais rápido dos representados no esquema cinético (3.16).



$$k_{obs} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \times \frac{k_i \times k_h}{k_i \times k_{-h} \times [H^+]} + \frac{k_{-i} \times k_{-h} \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \quad (3.17)$$

^Ψ A dedução da expressão (3.17) devido à sua considerável extensão encontra-se no Apêndice 2.

Através do assentamento da expressão (3.17) nos pontos experimentais é possível determinar $k_h=3.9 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, $k_{-h}=4.1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $k_i=1.8 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $k_{-i}=1.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $K_a=4.47 \times 10^{-5}$ e a partir daí $K_h=9.5 \times 10^{-5}$, $K_i=1.2$ e $K_t=5.3 \times 10^{-1}$. Nesta altura deve ser notado que os valores agora determinados para k_h , k_{-h} e k_i+k_{-i} estão de acordo com os anteriormente determinados a partir de saltos de pH 1 para a zona de 3.5 a 5.6. É possível neste momento determinar as fracções das várias espécies em equilíbrio de forma análoga à deduzida em (3.14), calculando a existência no equilíbrio de 18% de A, 38% de B, 20% de Cc e 24% de Ct. Todas as informações recolhidas sobre este sistema estão representadas no esquema cinético e termodinâmico do 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio, ver figura 3.26.

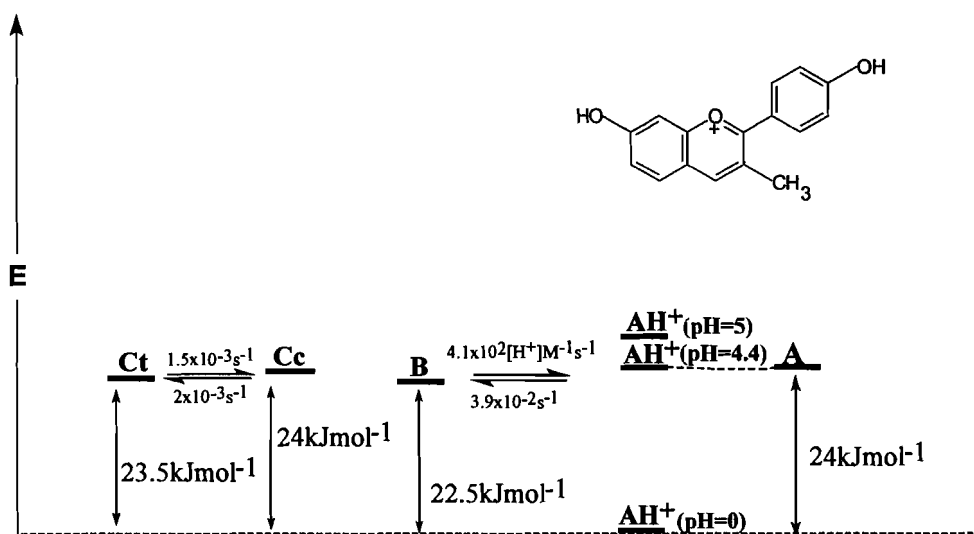


Figura 3.26– Esquema cinético e termodinâmico para o 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio.

3.4.3. Reactividade fotoquímica

Irradiação de uma solução equilibrada a pH 5 leva ao incremento da base, num processo oposto ao termodinâmico, até se atingir 50% de A. O equilíbrio termodinâmico é recuperado após 1h30 no escuro.

Fotólise por relâmpago de uma solução equilibrada a pH 4.6 mostra a 340nm (absorvância de Ct) um decréscimo na absorvância numa escala rápida demais para ser

detectada pelo espectrofotómetro. Por outro lado a 480nm a absorvância de A aumenta com uma constante observada de 0.055s^{-1} , ver figura 3.27. Esta constante encontra-se dentro do erro experimental da fotólise por relâmpago em razoável acordo com o valor 0.049s^{-1} , determinado para este pH a partir do k_h e k_{-h} extraídos da curva em sino.

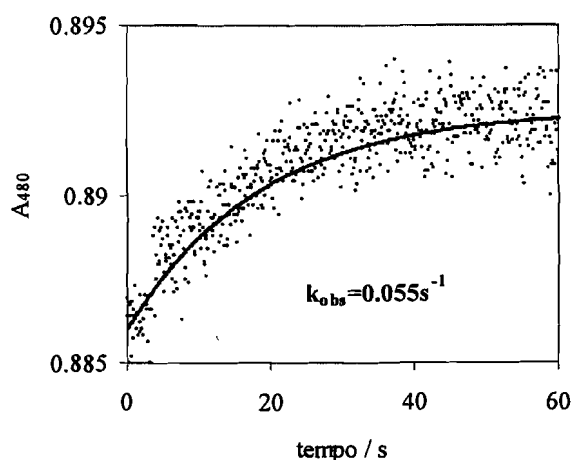


Figura 3.27 – Fotólise por relâmpago de uma solução de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio equilibrada a pH 4.64.

Numa escala de tempo maior (cerca de 15 minutos) a absorvância da Ct a 340nm é recuperada com uma constante observada de primeira ordem de 0.0033s^{-1} , ver figura 3.28. este valor está de acordo com o valor de $k_i + k_{-i}$ extraídos da curva em sino, bem como com a constante independente do pH observada nos saltos de pH 1 para 3.5 a 5.6.

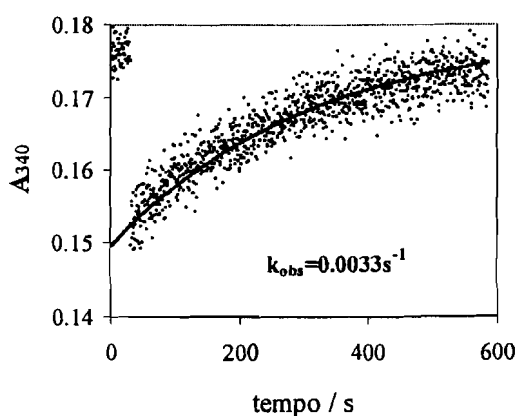
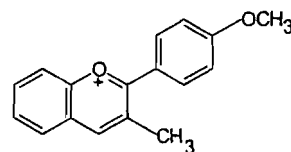


Figura 3.28 – Fotólise por relâmpago de uma solução de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio a pH 4.64.

3.4.4. Conclusão

A introdução de um substituinte hidroxilo na posição 7 do 4'-hidroxi-3-metilflavílio diminui a dificuldade da isomerização *cis-trans*, conduzindo à existência de uma mistura com 18% de A, 38% de B, 20% de Cc e 24% de Ct no equilíbrio. No entanto a isomerização é cerca de 100 vezes mais lenta ($k_{\text{obs}}=0.0033\text{s}^{-1}$) do que no caso do 7,4'-dihidroxiavílio ($k_{\text{obs}}=0.26\text{s}^{-1}$),^[52] confirmando que a introdução de um grupo metilo na posição 3 dificulta a isomerização *cis-trans* na chalcona. O efeito da substituição do hidroxilo na posição 7 reflecte-se numa diminuição da barreira da isomerização *cis-trans* de tal modo que permite a recuperação espontânea de AH^+ a partir de Ct em meio ácido à temperatura ambiente, ao longo de apenas 1 hora. Este efeito de diminuição da barreira resultante da substituição de um hidroxilo na posição 7 será estudado aprofundadamente nos capítulos 5 e 6. As fracções molares no equilíbrio também demonstram que apesar da substituição dos dois hidroxilos operar algumas modificações, a substituição do metilo na posição três continua a ser importante existindo como espécie maioritária o hemiacetal à semelhança do que acontece nas antocianinas naturais e ao contrário do que se passa com os flavílios sintéticos não substituídos nesta posição, nomeadamente o 7,4'-dihidroxiavílio, em que a espécie maioritária é a chalcona *trans*.

3.5. Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio



3.5.1. Soluções equilibradas

Na figura 3.29 encontra-se os espectros de absorção de U.V.-vís. de soluções aquosas equilibradas no escuro de cloreto de 3-metil-4'-metoxiflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ em meio ácido e neutro. Nesta figura é possível ver a pH 1.14 a banda de absorção característica do catião flavílio a 425nm ($\epsilon=28000 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) que decresce à medida que o pH aumenta. O espectro de absorção obtido entre pH 3.5 e 9 é compatível com a existência de hemicetal e Cc, mas não com chalcona *trans* cujo espectro característico não é visível.

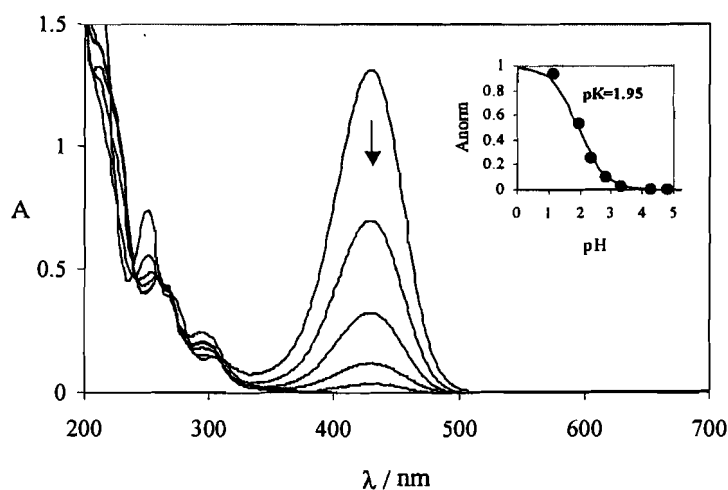


Figura 3.29 – Espectros de absorção de uma solução de cloreto de 3-metil-4'-metoxiflavílio $5 \times 10^{-5} \text{M}$ em função do pH: 1.14, 1.97, 2.37, 2.84, 3.32, 5.68, 9.18. Na inserção representa-se a absorvância a 425nm normalizada *versus* pH.

Quando uma solução equilibrada na zona de pH entre 3.5 e 8 é acidificada para pH 0 recupera-se imediatamente 100% de AH^+ confirmando a inexistência de Ct no equilíbrio. Atendendo a que não existe Ct no equilíbrio o K'_a é dado por $K_h + K_h K_t$ (equação (3.6)) e igual a 1.12×10^{-2} ($\text{p}K'_a = 1.95$). Nos estudos que McClelland desenvolveu com este composto,^[50] são seguidos por técnica de fluxo interrompido saltos reversos de pH de

soluções equilibradas em meio neutro para meio ácido, verificando-se que o processo de regeneração de catião flavílio procede com dois decaimentos pouco separados sendo o primeiro dependente do pH e o segundo independente, correspondendo à hidratação e à tautomerização respectivamente. Através de diversos saltos reversos para pH entre 1 e 2 este autor calcula $k_h=3.4s^{-1}$, $k_{-h}=7.7 \times 10^2 s^{-1} M^{-1}$, $k_t=8 \times 10^{-2} s^{-1}$ e $k_{-t}=4 \times 10^{-1} s^{-1}$, a partir dos quais determina $K_h=4.4 \times 10^{-3}$ e $K_t=2 \times 10^{-1}$. É preciso notar que estes valores conduzem a um $pK'_a=2.28$ um pouco superior ao 1.95 anteriormente determinado, no entanto reforçam a anterior conclusão de não existir Ct no equilíbrio. Através destas constantes é possível também determinar que no equilíbrio em meio ácido ou neutro existem 83% de hemiacetal e 17% de chalcona *cis*, confirmando neste caso também o B como produto termodinâmico maioritário.

Na zona básica é possível ver que o espectro a pH 8.54 de uma mistura de B e Cc se altera até pH 12, aparecendo uma nova banda a 290nm atribuível à chalcona *cis* ionizada e uma outra a 380nm atribuível à chalcona *trans* ionizada como se verá mais à frente, que aumentam de intensidade com o aumento de pH, figura 3.30. Estes espectros mantêm-se constantes durante 24h, sugerindo que o equilíbrio se estabelece logo após o salto de pH. Uma reacidificação da solução equilibrada a pH 12 leva à imediata recuperação de 94.5% de AH^+ juntamente com 5.5% de Ct, sendo recuperados 100% de AH^+ após irradiação. Assim pode concluir-se que no equilíbrio a pH 12 existem 94.5% de Cc ionizada e 5.5% de Ct ionizada.

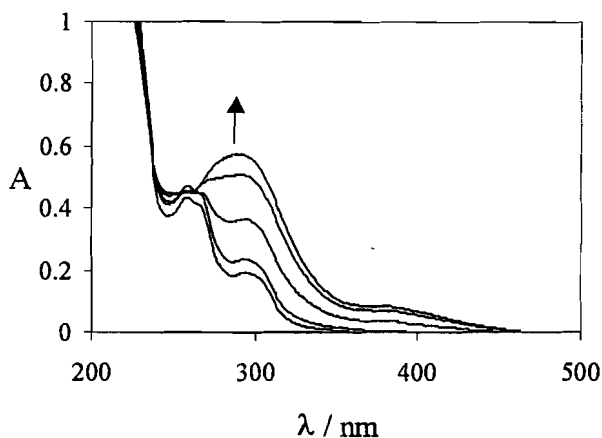


Figura 3.30 – Espectros de absorção de uma solução de cloreto de 3-metil-4'-metoxiflavílio $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ em função do pH: 8,54, 9,1, 10, 10,74, 12.

Compilando toda a informação sobre a termodinâmica e cinética deste composto, recorrendo às constantes determinadas por McClelland^[50], é possível construir um esquema termodinâmico e cinético que facilite a compreensão do sistema, ver figura 3.31.

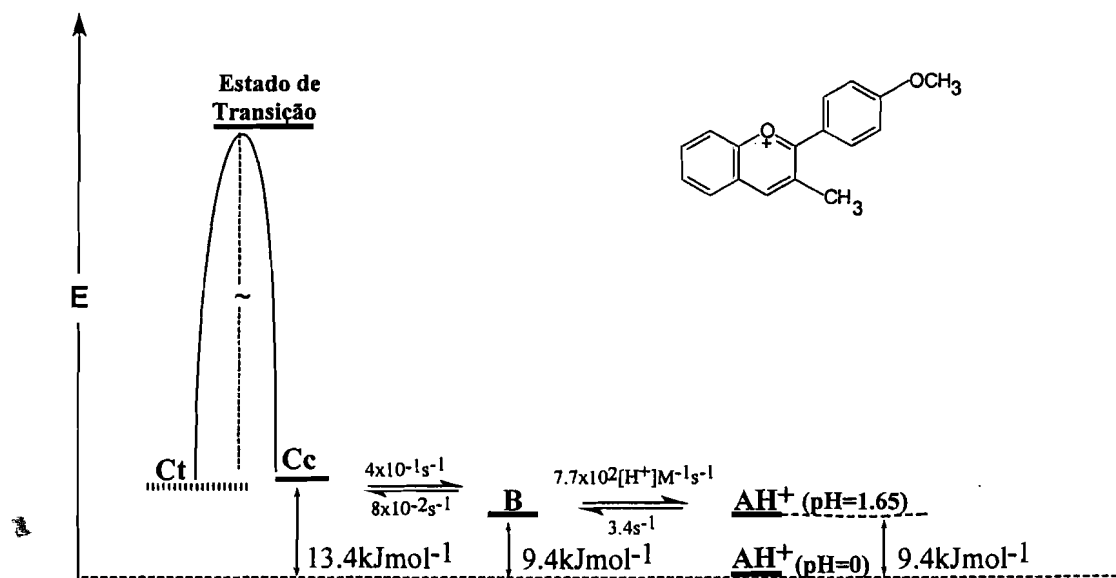


Figura 3.31 – Esquema cinético e termodinâmico para o 3-metil-4'-metoxiflavílio.

3.5.2. Reactividade térmica

Apesar de não existir Ct no equilíbrio à temperatura ambiente, aquecendo a 60°C durante 3 dias uma solução a pH 8.5 contendo B + Cc a banda correspondente a estas espécies a 265nm decresce ao mesmo tempo que a absorvância a 300nm aumenta devido à formação de Ct, ver figura 3.32.

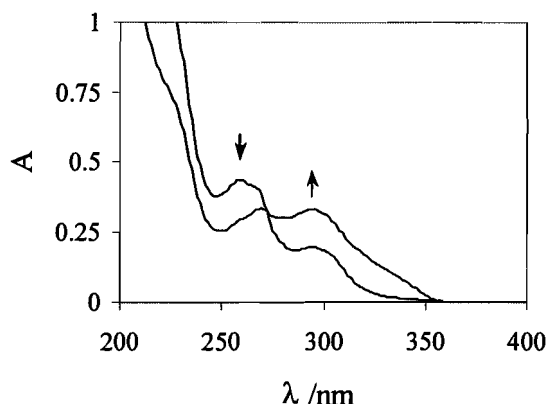


Figura 3.32 – Espectros de absorção de uma solução de 3-metil-4'-metoxiflavílio a pH 8.5 equilibrada à temperatura ambiente e após 3 dias a 60°C.

A acidificação desta solução para pH 1 leva à imediata recuperação de 58% de AH^+ e 42% de Ct com um espectro de absorção que se mantém constante à temperatura ambiente por várias horas indiciando a existência de uma elevada energia de activação para a isomerização *cis-trans* da chalcona. A irradiação da solução anterior permite superar esta barreira e recuperar 100% de AH^+ .

Quanto à zona básica, uma solução equilibrada a pH 12 contendo 5% de Ct ionizada e 95% de Cc ionizada à temperatura ambiente, ao ser aquecida a 60°C durante 3 dias apresenta um aumento da banda correspondente à Ct a 390nm, ver figura 3.33. A acidificação desta solução para pH 1 leva à imediata recuperação de 20% de AH^+ e 80% de Ct. A irradiação desta solução conduz à recuperação de 94% de AH^+ , mostrando que a pH básico e elevada temperatura existe degradação.

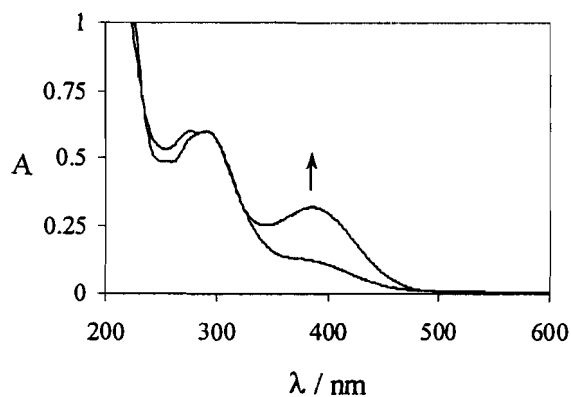


Figura 3.33 – Espectros de absorção de uma solução de 3-metil-4'-metoxiflavílio a pH 12 equilibrada à temperatura ambiente e após 3 dias a 60°C.

3.5.3. Reactividade fotoquímica

A irradiação durante um máximo de 40 minutos a 313nm de uma solução equilibrada a pH 8.5 contendo B e Cc leva a um aumento quase imperceptível da absorvância a 300nm devido à formação de Ct. A acidificação desta solução leva à imediata recuperação de 91.5% de AH^+ e 8.5% de Ct, mostrando que fotoquimicamente se pode ultrapassar a barreira de isomerização. No entanto deve ser atingido um estado fotoestacionário que não permite formar mais de 8.5% de Ct.

A irradiação a 313nm de uma solução equilibrada a pH 12 leva a um aumento da banda de absorção a 380nm correspondente à formação de Ct ionizada, ver figura 3.34.

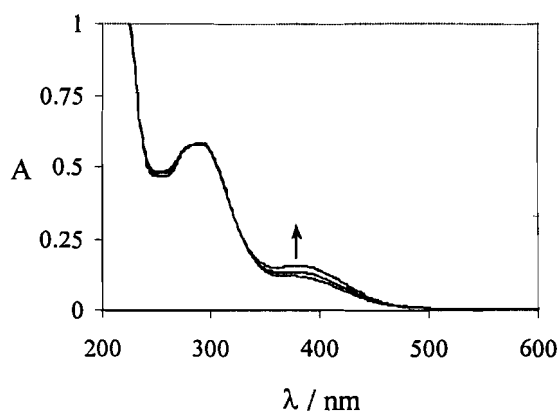


Figura 3.34 – Irradiação a 313nm de uma solução de 3-metil-4'-metoxiflavílio equilibrada a pH 12. Tempo de irradiação: 0min, 10min, 70min.

A acidificação desta solução leva à imediata recuperação de 75% de AH^+ e 25% de Ct, mostrando foi atingido um estado fotoestacionário que impede a formação de mais Ct. Este espectro mantém-se constante ao longo do tempo, no entanto posterior irradiação leva à recuperação de 100% de AH^+ , ver figura 3.35.

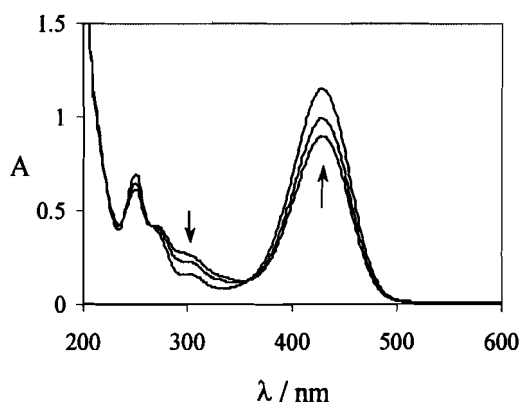


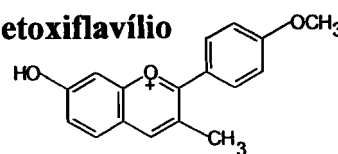
Figura 3.35 – Irradiação a 313nm de uma solução de 3-metil-4'-metoxiflavílio contendo 75% de AH^+ e 25% de Ct a pH 1. Tempo de irradiação: 0min, 0min, 13min.

3.5.4. Conclusão

O comportamento do 3-metil-4'-metoxiflavílio mostra que a substituição do metilo na posição três continua a ser dominante não existindo chalcona *trans* no equilíbrio em meio ácido ou neutro e aparecendo como produto termodinâmico maioritário o hemiacetal (83%). No entanto ao contrário do que se passa com o 3-metilflavílio onde não é possível obter chalcona *trans* térmica ou fotoquimicamente, no caso do 3-metil-4'-metoxiflavílio aquecendo a 60°C podem obter-se 42% deste isômero e fotoquimicamente 8.5%.

Em meio básico a isomerização da chalcona *cis* ionizada a *trans* dá-se em muito pequena extensão, ao contrário do caso do 3-metilflavílio em que esta ocorre espontaneamente à temperatura ambiente numa extensão de 100%. No entanto quer térmica quer fotoquimicamente é possível aceder a uma maior quantidade de Ct ionizada.

3.6. Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio



3.6.1. Soluções equilibradas

Na figura 3.36 encontra-se os espectros de absorção de U.V.-vis. de soluções aquosas de tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio $4 \times 10^{-5} \text{M}$ equilibradas 24 horas no escuro em meio ácido e neutro. Nesta figura é possível ver a pH 1 a banda de absorção característica do catião flavílio a 450nm ($\epsilon=27250 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) que decresce à medida que o pH aumenta, originando um espectro com uma banda característica da base quinoidal a 485nm e mais algumas bandas a menores comprimentos de onda compatíveis com a existência de hemicetal, chalcona *cis* e chalcona *trans*, ver figura 3.36.

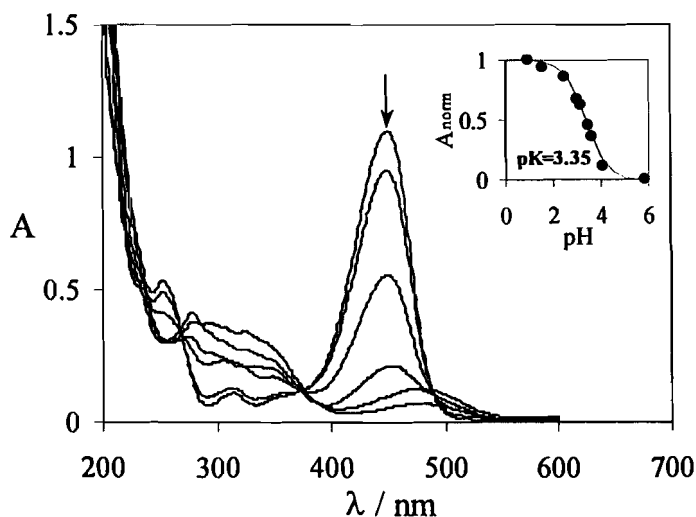


Figura 3.36 – Espectros de absorção de uma solução de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio $4 \times 10^{-5} \text{M}$ em função do pH: 1, 2.48, 3.44, 4.06, 6.14, 6.36. Na inserção representa-se a absorvância a 450nm normalizada em função do pH.

Quando uma solução equilibrada a pH 6.14 é acidificada para pH 1 recuperam-se imediatamente 57% de catião flavílio e posteriormente ao longo de 1 hora atinge-se a totalidade de recuperação, como se verá mais à frente. Este resultado permite concluir que

no equilíbrio existem 43% de Ct e 57% de uma mistura de A, B e Cc. Assim K'_a é dado por $K_h + K_hK_t + K_hK_tK_i$ (equação (3.6)) e igual a 4.5×10^{-4} ($pK'_a=3.35$).

Na zona básica é possível ver que o espectro a pH 6.5 correspondente a uma mistura de A, B, Cc e Ct se altera até pH 11.8, aparecendo uma nova banda a 435nm atribuível à chalcona *trans* ionizada que como se verá mais à frente é a única espécie presente a pH superior a 11, figura 3.37. Estes espectros mantêm-se constantes desde 2h até 24h após o ajuste de pH, sugerindo que o equilíbrio se estabelece pouco depois do salto de pH.

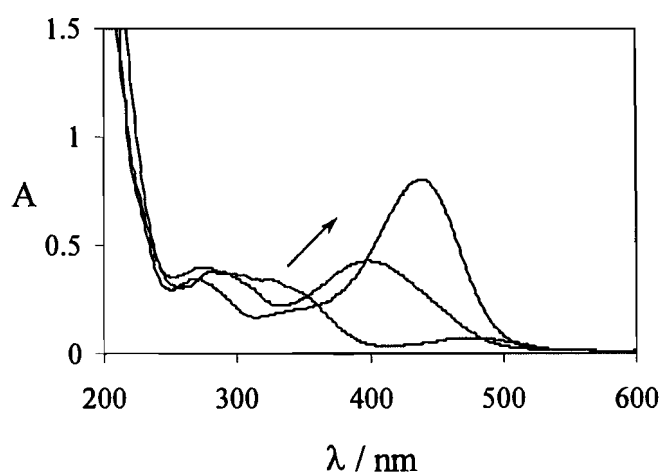


Figura 3.37 – Espectros de absorção de uma solução de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio $4 \times 10^{-5} M$ em função do pH: 6.50, 9.51, 11.82.

3.6.2. Soluções não equilibradas

Acidificação para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 6.14 leva à imediata recuperação de 57% de catião flavílio e posteriormente ao longo de 1 hora com uma cinética de primeira ordem com uma constante observada de $1 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ recuperam-se os 100%. Este resultado permite concluir que no equilíbrio existem 43% de Ct e 57% de uma mistura de A, B e Cc, uma vez que os processos de hidratação, tautomerização e perda de próton são de um modo geral mais rápidos do que a isomerização que será portanto o processo que ocorre em 1 hora. Para além da informação referente às espécies em

equilíbrio, este resultado também indica que a barreira à isomerização à semelhança do que acontece no 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio é bastante baixa conseguindo ser superada à temperatura ambiente durante 1 hora.

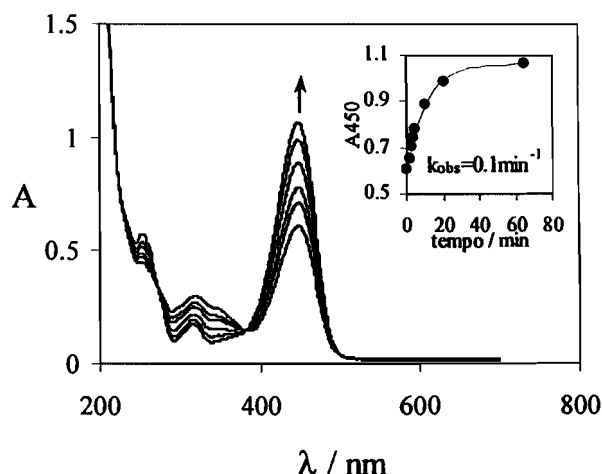


Figura 3.38 – Espectros de absorção de uma solução de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio após um salto de uma solução equilibrada a pH 6.14 para pH 1. Na inserção está representada a absorvância a 450nm em função do tempo.

Na zona básica, a acidificação de uma solução equilibrada a pH 11 para pH 1 não conduz à recuperação de AH^+ de imediato, mas ao longo de 1 hora recuperam-se 100% com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é $1.1 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ (figura 3.39).

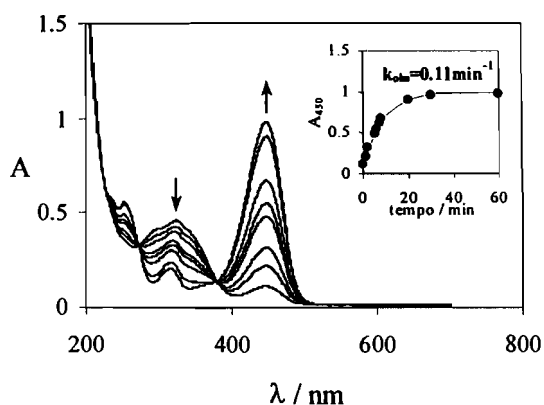


Figura 3.39 – Espectros de absorção de uma solução de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio após um salto de uma solução equilibrada a pH 11 para pH 1. Tempo de recuperação: 0.5min, 1.5min, 2.5min, 5min, 6min, 8min, 20min, 60min.

3.6.3. Reactividade fotoquímica

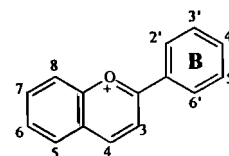
A irradiação a 313nm de uma solução equilibrada a pH 6.14 leva ao aumento da banda a 485nm correspondente à base concomitantemente com a diminuição das bandas a menores comprimentos de onda, num processo oposto ao termodinâmico. Finda a irradiação o equilíbrio é retomado ao longo de 1 dia.

A irradiação a 436nm de uma solução equilibrada a pH 11 leva a uma diminuição de 30% da banda de absorção a 435nm correspondente a 100% de Ct ionizada. A acidificação desta solução inicialmente não apresenta recuperação de flavílio e apenas conduz à recuperação de 70% de AH^+ ao fim de 1 hora, mostrando que a irradiação a pH básico acarreta degradação.

3.6.4. Conclusão

O 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio não foi estudado de um modo aprofundado dado apresentar muitas semelhanças como comportamento do 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio que já foi exaustivamente estudado. No entanto deve ser realçado novamente o efeito da substituição de um hidroxilo na posição 7 que sobrepondo-se ao efeito da substituição do grupo metilo na posição 3, diminui a barreira à isomerização *cis-trans* permitindo a existência de chalcona *trans* no equilíbrio e a partir desta em meio ácido recuperar espontaneamente catião flavílio.

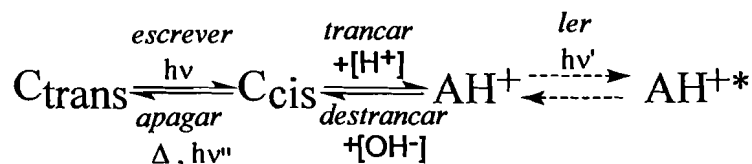
Capítulo 4. Flavílios substituídos no anel B.



4.1.Introdução

O desenvolvimento de dispositivos de memória de nível molecular é actualmente um tema de grande interesse na investigação pura e aplicada.^[14-17] Apesar da computação baseada em dispositivos moleculares não ser ainda uma realidade próxima, o desenho e construção de sistemas moleculares com potencial aplicação como dispositivos de memória óptica continua a ser um grande desafio (ver esquema 3, Introdução geral).

Moléculas que existam em duas formas inter-convertíveis por acção de um estímulo externo, como é o caso de chalconas que contêm uma ligação C=C passível de isomerização *cis-trans* fotoinduzida, são bastante comuns. Como foi focado na introdução geral, o uso destes compostos como dispositivos de memória baseia-se em considerar a foto-isomerização *trans-cis* um sistema alternativo ao actualmente utilizado sistema binário, onde *escrever* significa irradiar a forma *trans* e *ler* corresponde a detectar a espécie *cis*. No entanto a instabilidade do produto *cis* formado que quer térmica ou fotoquimicamente tem tendência a reverter a *trans*,^[18,19] impede o uso directo deste tipo de moléculas em dispositivos de memória, uma vez que a informação armazenada na forma *cis* é apagada ao longo do tempo ou quando é lida. Este obstáculo pode ser superado pela introdução de um novo estímulo (ex.º transferência de protões) -*trancar*-^[20] após *escrever*, que converta a espécie *cis* numa outra espécie estável térmica e fotoquimicamente que possa ser opticamente detectada sem ser apagada. Os flavílios sintéticos são sistemas que possuindo mais que duas formas interconvertíveis por mais que um tipo de estímulo externo verificam este tipo de química, tornando possível levar a cabo ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* (esquema 4.1).^[21-23]



Esquema 4.1

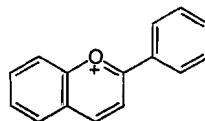
Nestes ciclos, o passo *escrever* consiste na fotoisomerização da *trans*-chalcona a *cis*-chalcona, seguido de um passo *trancar* em que por diminuição do pH se obtém o catião flavílio opticamente estável, que se pode *ler* sem destruir. Este processo pode ser revertido por um passo *destrancar* (aumento do pH), seguido de aquecimento ou irradiação para *apagar*. O passo *trancar* pode ser suprimido se o ciclo se iniciar a um pH suficientemente baixo a que a *cis*-chalcona que se forma imediatamente se converta em catião flavílio. Nesse caso diz-se que se trata de um pH que permite *auto-trancar*.

Tal como Pina e Balzani ^[21] sugeriram pela primeira vez em 1997, os flavílios sintéticos podem então ser considerados sistemas de armazenamento de informação múltiplos e com capacidade de leitura não destrutiva, *i.e.* onde o sinal gravado pode ser apagado quando necessário para permitir múltipla gravação, sem ser no entanto destruído pela acção de leitura.

É necessário não esquecer que a utilização de flavílios sintéticos como modelos de memórias ópticas implica a existência de uma barreira cinética que impeça a isomerização térmica da *trans*-chalcona para *cis*-chalcona, garantindo a estabilidade térmica do sinal gravado. Essa barreira cinética existe no flavílio não substituído^[55] e é de um modo geral aumentada por substituintes doadores na posição 4'.^[21-23, 56] No entanto decresce por acção de substituintes doadores na posição 7 (ver Capítulos 5 e 6),^[57] impedindo o uso destes últimos derivados em memórias ópticas. O efeito de diferentes substituintes na posição 4'

na barreira de isomerização e o daí resultante potencial uso destes compostos como dispositivos ópticos de memória é discutido ao longo deste capítulo.

4.2. Perclorato de flavílio



As transformações estruturais térmicas do perclorato de flavílio foram estudadas em 1980 por *McClelland* e *Gedge*^[13] que através de saltos de pH determinaram as constantes cinéticas e termodinâmicas dos processos térmicos que interligam as diversas formas deste composto. Mais tarde em 1999 *Pina* e *Maestri*^[55] reavaliaram as reacções térmicas deste composto em meio ácido e neutro, estendendo o estudo a meio básico e estudaram pela primeira vez o seu comportamento fotoquímico. Por fim baseados no conjunto de informação recolhida formularam ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* com o perclorato de flavílio. São pois extraídos desta última publicação^[55] todos os dados relativos ao perclorato de flavílio apresentados em seguida.

Em meio fortemente ácido o catião flavílio é a espécie termodinamicamente estável ($\lambda_{\text{máx}}=394\text{nm}$; $\epsilon=34000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). O aumento do pH conduz à transformação do catião flavílio em hemicetal e chalcona *cis* em minutos, estabelecendo-se um pseudo-equilíbrio entre o catião flavílio e estas duas espécies com uma constante $\text{pK}^{\wedge}_{\text{a}}$ de 3.0. Numa escala de tempo muito maior (1dia) forma-se chalcona *trans* estabelecendo-se o equilíbrio termodinâmico apenas entre AH^{+} e Ct com uma constante pK'_{a} de 1.64. Esta última transformação corresponde à isomerização *cis-trans* e apresenta uma barreira de activação de 89kJmol^{-1} que impede a regeneração de AH^{+} após reacidificação de Ct, resultando num estado meta estável.

Após várias experiências de saltos de pH e de reatividade fotoquímica foram determinadas as constantes cinéticas e termodinâmicas deste sistema apresentadas na tabela 4.1.

Tabela 4.1

K'_a	K_h	K_t	K_i	$k_h (s^{-1})$	$k_h (s^{-1}M^{-1})$	$k_i (s^{-1})$	$k_i (s^{-1})$
2.3×10^{-2}	9.8×10^{-4}	6.0×10^{-2}	4.0×10^2	4.6	4.7×10^3	4.1×10^{-4}	1.1×10^{-6}

A partir destas constantes é possível construir o diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do flavílio apresentado na figura 4.1.

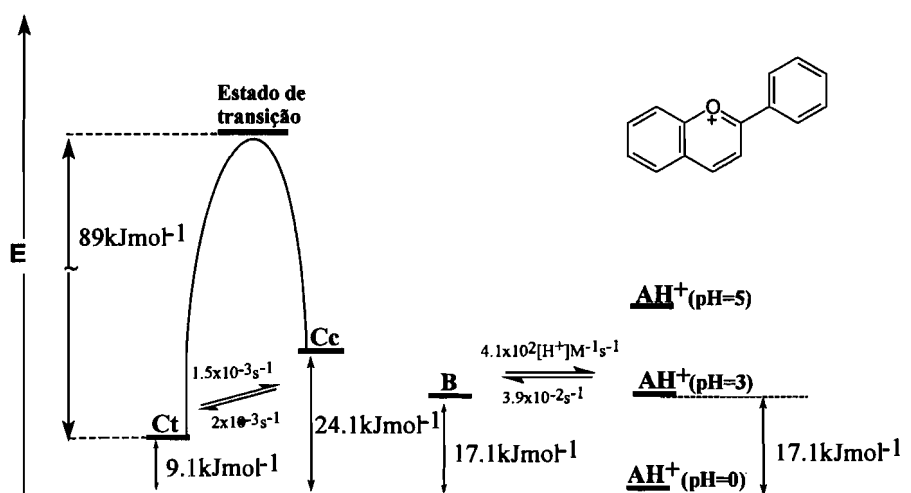


Figura 4.1 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do flavílio em meio fracamente ácido e correspondentes constantes cinéticas.

De acordo com o diagrama anterior e tendo em conta que a barreira cinética à isomerização *cis-trans* da chalcona pode ser superada fotoquimicamente ou por aquecimento, pode ser construído o ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* representado na figura 4.2.

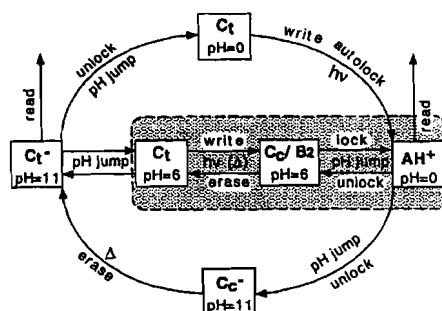
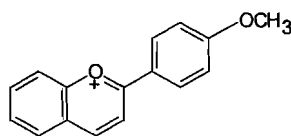


Figura 4.2 – Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. Extraído com permissão de F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, P. Passaniti, N. Camaioni, V. Balzani, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 3199.

A reversibilidade do sistema foi testada realizando sucessivamente o ciclo anterior a pH 2.2 (*autolock*) e a 60°C. Esta experiência mostrou que ao fim de 7 ciclos apenas 77% de AH^+ é recuperado.

4.3. Perclorato de 4'-metoxiflavílio



As transformações estruturais do perclorato de 4'-metoxiflavílio foram estudadas em 1980 por McClelland e Gedge^[13] que através de saltos de pH determinaram a existência de sete espécies diferentes, bem como as constantes cinéticas e termodinâmicas dos processos térmicos que as interligam. Em 1997 Pina, Maestri e Balzani^[21] retomaram o estudo deste composto, propondo pela primeira vez ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. São extraídos desta publicação^[21] os dados relativos ao perclorato de 4'-metoxiflavílio apresentados em seguida.

Em meio fortemente ácido o catião flavílio é a espécie termodinamicamente estável ($\lambda_{\text{máx}}=435\text{nm}$; $\epsilon=42000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Um salto de pH 1 para 4.29 leva em poucos segundos a um pseudo-equilíbrio ($\text{pK}'_{\text{a}}=4.3$) com 50% de AH^+ , 33.2% de B, 0.3% de B_4 (hemiacetal formado por hidratação na posição 4), e 16.5% de Cc. Ao longo de 1 dia esta mistura converte-se totalmente em Ct ($\text{pK}'_{\text{a}}=1.0$), num processo limitado pela isomerização *cis*-

trans com barreira de activação de 93 kJmol^{-1} . Esta barreira impede que após reacidação de uma solução contendo Ct se dê a recuperação espontânea de AH^+ , que só se torna possível por irradiação ou por aquecimento. O diagrama de energia das várias espécies do 4'-metoxiflavílio onde está também representado o ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* é apresentado na figura 4.3.

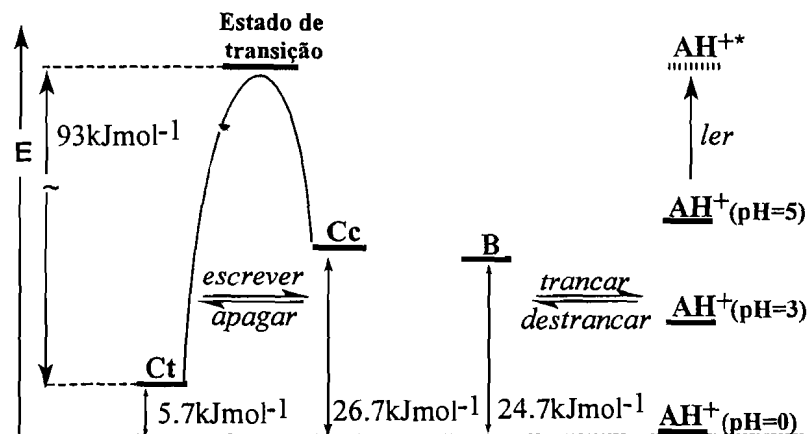
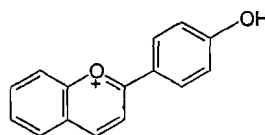


Figura 4.3 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 4'-metoxiflavílio.

4.4. Perclorato de 4'-hidroxiflavílio^[22]



4.4.1. Soluções em meio ácido ou neutro

Quando uma solução de perclorato de 4'-hidroxiflavílio a pH 1 contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}}=435\text{nm}$, $\epsilon=41000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto para pH 7, verifica-se um decréscimo da banda de absorção a 435nm e o aparecimento de uma nova banda atribuível à base quinoidal ($\lambda_{\text{máx}}=500\text{nm}$, $\epsilon=44000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), ver figura 4.4.

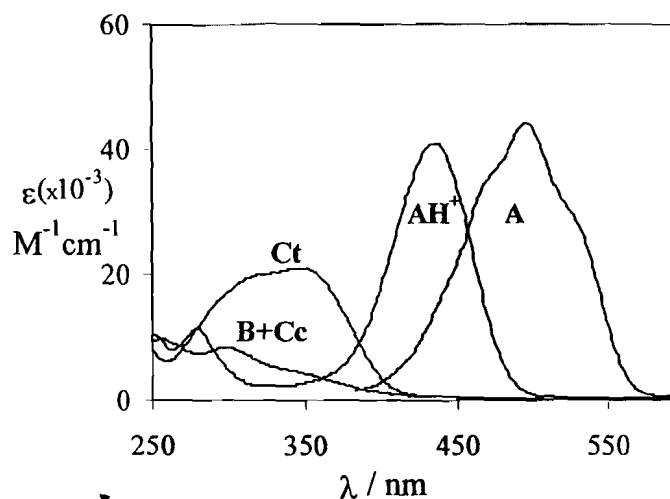


Figura 4.4 – Espectros de absorção das espécies AH^+ , A, B+Cc e Ct do 4'-hidroxiflavílio.

A desprotonação é demasiado rápida para ser seguida por técnica de fluxo interrompido. No entanto *McClelland* e *McGall* conseguiram calcular um pK_a de 5.53 para este processo através de uma técnica de saltos de temperatura,^[58] o que permite verificar que imediatamente após um salto para pH 7 praticamente todo o AH^+ se converte em A. A formação imediata de 100% de A é acompanhada de um segundo processo completo em poucos minutos que pode ser seguido por técnica de fluxo interrompido, estabelecendo-se um pseudo-equilíbrio constituído por A, B e Cc (figura 4.4). Esta mistura de pseudo-equilíbrio numa escala de tempo muito maior (1 dia) é totalmente convertida em Ct que é o produto termodinamicamente mais estável a este pH. Na figura 4.5 é possível ver o desaparecimento de A a 55°C com estes dois decaimentos: o primeiro de segundos conduzindo ao estabelecimento do pseudo-equilíbrio e o segundo de horas conduzindo ao equilíbrio final.

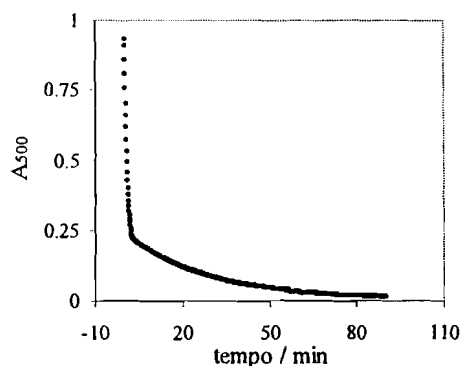


Figura 4.5- Variação da absorvância a 500nm após um salto de pH 1 para 7 a 55°C.

Quando é levado a cabo um salto para pH 4 de uma solução contendo AH^+ a pH 1, a desprotonação não é completa obtendo-se uma mistura de AH^+ e A que em minutos equilibra com B e Cc (pseudo-equilíbrio) e finalmente em horas obtém-se apenas AH^+ e Ct no equilíbrio final. Este comportamento é característico em toda a zona moderadamente ácida, onde uma série de saltos de pH para diferentes valores (figura 4.6) permite obter uma constante de pseudo-equilíbrio pK_a de 4.4 (inserção da figura 4.6).

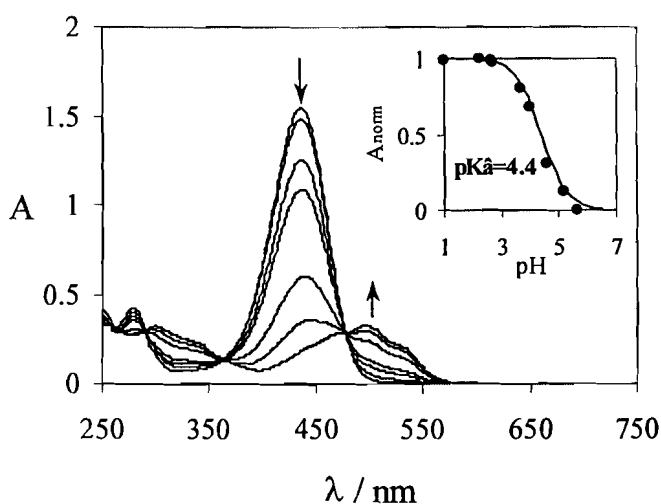


Figura 4.6- Espectros de absorção do 4'-hidroxiflavílio aos 30 minutos após diversos saltos de pH de 1 para pH final entre 1 e 7 ($4 \times 10^{-5} M$). Na inserção está a fracção de AH^+ em função do pH.

A percentagem de AH^+ presente no equilíbrio obtido após cada um dos saltos de pH anteriores permite calcular uma constante de equilíbrio final pK'_a de 1.9 (60°C).

Se por outro lado for seguida a velocidade de obtenção de Ct em diversos saltos de pH 1 para uma gama de pH de 4 a 7, verifica-se que a constante de velocidade observada é linearmente dependente da fracção molar de Cc no pseudo-equilíbrio, ver figura 4.7. Esta dependência linear confirma que o passo determinante da velocidade da conversão de AH⁺ em Ct após o salto de pH é a isomerização da chalcona. Mais ainda a velocidade com que se obtém Ct após um salto de pH segue sempre uma cinética de primeira ordem, cuja constante observada é dada por $k_{obs}=k_i+k_{-i}\cong k_i$ e quando determinada a diferentes temperaturas permite através de um gráfico de Arrhenius determinar uma energia de activação de 129 kJmol⁻¹ para a isomerização *cis-trans*.

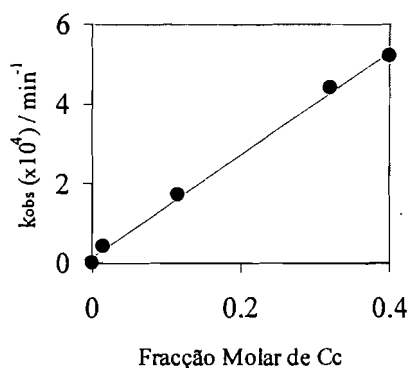
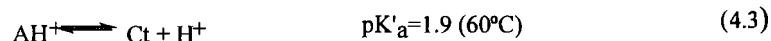
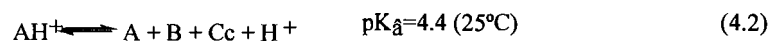
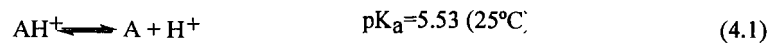


Figura 4.7 - Representação da constante observada para a obtenção de Ct a partir de AH⁺ em função da fracção molar de Cc.

Resumindo, quando uma solução contendo AH⁺ a pH 1 sofre um salto de pH para um pH fracamente ácido ou neutro, observam-se dois pseudo-equilíbrios ((4.1) e (4.2)) e um equilíbrio real (4.3) cujos pK podem ser determinados devido à elevada diferença que separa as escalas de tempo em que se estabelece cada um deles.



A partir dos valores determinados para as constantes destes 3 equilíbrios é possível fazer uma representação da distribuição das fracções molares das espécies envolvidas em cada um deles (figura 4.8) e ainda o respectivo diagrama de energias para o equilíbrio termodinâmico (figura 4.9).

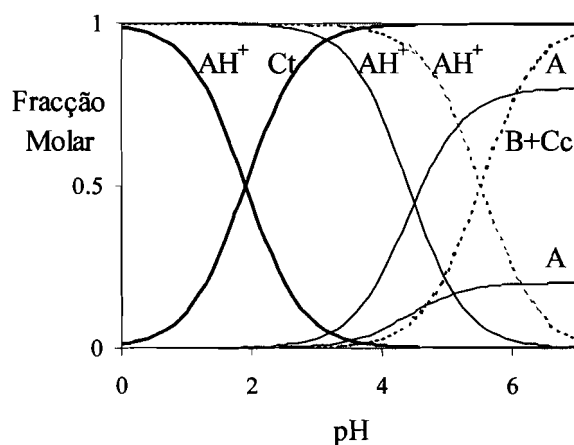


Figura 4.8 - Representação da distribuição das fracções molares das espécies envolvidas nos 3 equilíbrios: (---) pseudo-equilíbrio (4.1); (—) pseudo-equilíbrio (4.2); (—) equilíbrio final (4.3).

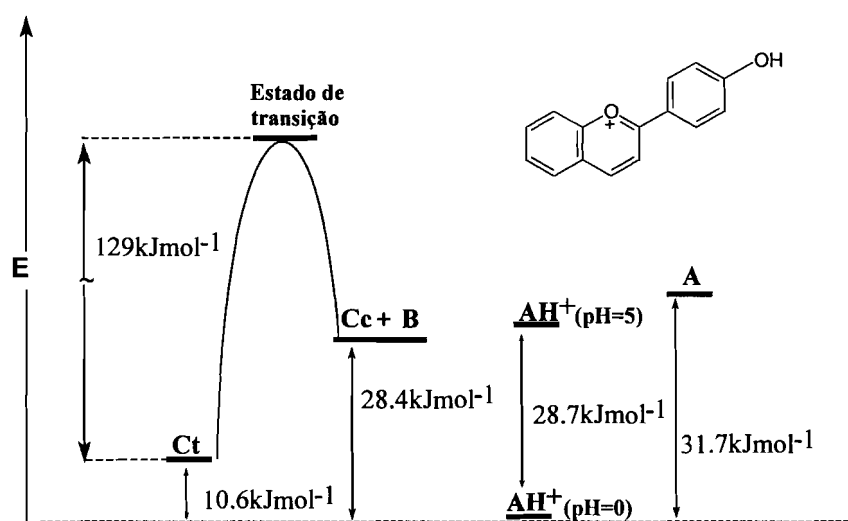


Figura 4.9 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 4'-hidroxiflavílio.

4.4.2. Soluções em meio básico

As transformações em meio básico foram estudadas por *McClelland e McGall*,^[58] que após um salto de pH 1 para 12 observaram um comportamento muito mais simples do que em meio neutro. O AH^+ desprotona originando A que desaparece num processo muito rápido originando Cc^- e Cc^{2-} ($pK_{ac1}=7.9$, $pK_{ac2}=9.7$), sendo os produtos finais do equilíbrio termodinâmico Ct^- e Ct^{2-} ($pK_{ac1}=7.6$, $pK_{ac2}=8.3$).

4.4.3. Reactividade fotoquímica

4.4.3.1. Irradiação contínua

A irradiação contínua a 365nm de uma solução contendo Ct na gama de pH de 4 a 7 conduz a alterações espectrais opostas às obtidas após um salto de pH 1 para o pH em questão. Na figura 4.10 é possível ver as variações espectrais provocadas pela irradiação de soluções a pH 4 e 7 respectivamente.

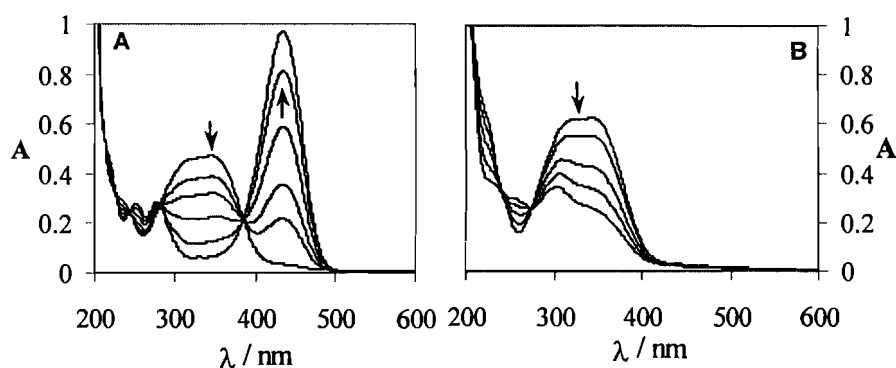


Figura 4.10 – Variação espectral após irradiação a 365nm de uma solução contendo Ct a: (A) pH 4, tempo de irradiação 0, 0.5, 1, 2, 4, 12min e (B) pH 7, tempo de irradiação 0, 0.25, 0.45, 1.5, 10min.

Os primeiros produtos da reacção fotoquímica de Ct são Cc e B, que após serem formados estabelecem termicamente o pseudo-equilíbrio (4.2), em cujas quantidades de Cc, B, A e AH^+ são determinadas pelo pH da solução. A pH menor que 3 o único produto é AH^+ que se forma com um rendimento quântico de 0.04, correspondente ao rendimento

quântico da isomerização *trans-cis*. A pH 4 apesar de AH^+ ser maioritário também existe alguma quantidade de A, B e Cc, e finalmente a pH 7 já não se forma AH^+ . Após terminar a irradiação os produtos obtidos tendem a reverter em Ct termicamente.

A irradiação a 313nm de uma solução contendo A, B e Cc em pseudo-equilíbrio a pH 7, leva ao aparecimento de Ct com um rendimento quântico baseado na totalidade de luz absorvida de 0.16. Como a este pH na mistura existem 40% de Cc que absorverá correspondente fracção de luz, o rendimento quântico da isomerização *cis-trans* será cerca de 0.4.

A irradiação a 313nm de uma solução contendo Cc^{2-} leva ao aparecimento de um espectro igual ao obtido após um salto de pH de uma solução contendo Ct para pH 12, ou seja Ct^{2-} , com um rendimento quântico de 0.17. Por outro lado a irradiação de Ct^{2-} não apresenta qualquer variação espectral.

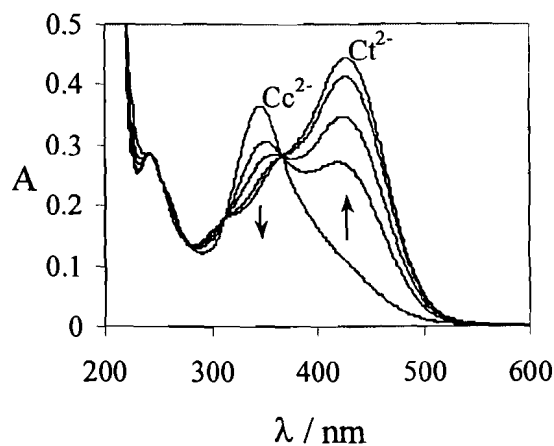


Figura 4.11 – Variação espectral após irradiação a 313nm de uma solução ($2 \times 10^{-5}M$) contendo Cc^{2-} a pH 12. Tempo de irradiação 0, 1, 2, 4, 30min..

4.4.3.2. Fotólise por relâmpago

A fotólise por relâmpago^[59] de uma solução contendo Ct a pH 4 seguida a 350nm ($\lambda_{\text{máx}}$ Ct) mostra um único desaparecimento de absorvância na escala de tempo em que se dá o relâmpago, no entanto a 440nm ($\lambda_{\text{máx}}$ AH^+) é possível seguir a formação de AH^+ ao longo de alguns segundos. Este desfasamento é consistente com a formação de Cc durante o tempo de vida do relâmpago levando ao imediato desaparecimento de Ct e só depois em segundos Cc dá origem a AH^+ em equilíbrio com A, com uma cinética controlada pela formação de B ($k_{\text{obs}}=0.22\text{s}^{-1}$) conduzindo ao aumento da absorvância a 440nm. Seguindo a fotólise por relâmpago a pH 4 a diversos comprimentos de onda é possível construir um gráfico das diferenças de absorvância obtidas em função do comprimento de onda e assim verificar quais são as diferenças espectrais globais obtidas, ver figura 4.12.

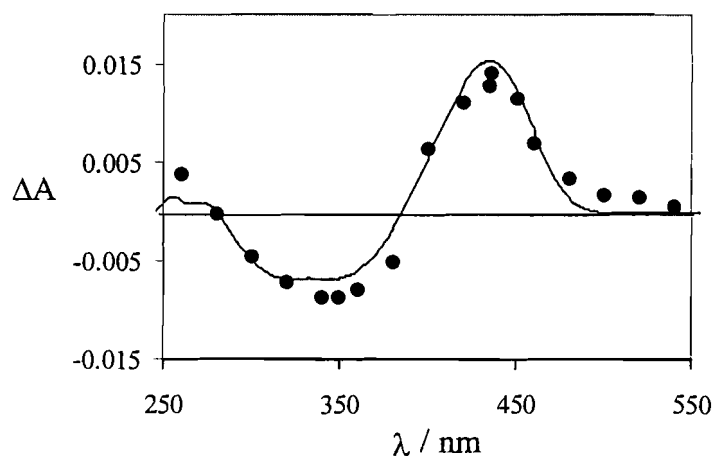


Figura 4.12 – Espectro diferencial obtido 5s após fotólise por relâmpago de uma solução contendo Ct a pH 4 (•). A curva corresponde ao espectro diferencial obtido após irradiação contínua a pH 4 (—).

A fotólise por relâmpago de uma solução contendo Ct a pH 7 leva ao desaparecimento da absorvância a 350nm durante o tempo de vida do relâmpago, devido à formação de Cc. No entanto em seguida dá-se um segundo processo muito mais lento que leva à formação de A com uma constante observada de 0.0026s^{-1} . Esta constante está de

acordo com o valor de 0.0025s^{-1} obtido por McClelland^[58] que por saltos de pH mostrou que a formação de A a partir de Cc a este pH é determinada pela reacção de formação de AH^+ a partir de B.

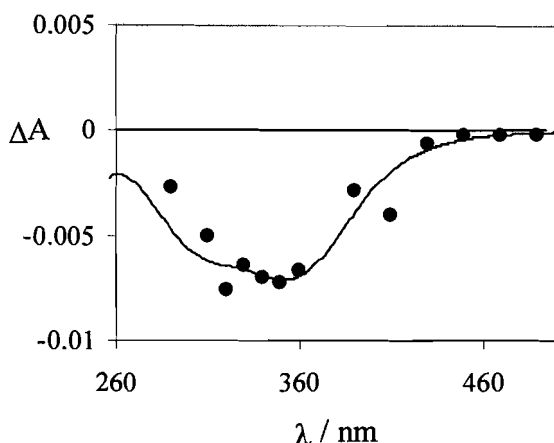


Figura 4.13 – Espectro diferencial obtido 5s após fotólise por relâmpago de uma solução contendo Ct a pH 7 (•). A curva corresponde ao espectro diferencial obtido após irradiação contínua a pH 7 (—).

4.4.4. Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*

Dependendo do pH o 4'-hidroxiflavílio pode existir em quatro formas termodinamicamente estáveis (AH^+ , Ct, Ct^- , Ct^{2-}) e pode ainda interconverter-se entre diversas outras formas por acção de duas entradas*: luz e alteração do pH. Por este motivo o 4'-hidroxiflavílio pode ser utilizado para a construção de modelos de memórias ópticas com capacidade de armazenamento de informação múltipla e de leitura não destrutiva, através de ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. Para a construção destes ciclos, ser mais simples serão desprezados os produtos transientes B e A uma vez que se encontram sempre em equilíbrio com Cc, representando-se esta mistura apenas por Cc.

Pode ser construído um ciclo (figura 4.14) a partir da espécie Ct termodinamicamente estável na região de pH de 4 a 7. A espécie Ct pode ser fotoquimicamente convertida na espécie Cc termodinamicamente instável (*escrever*).

* o termo *entrada* é utilizado em substituição do termo inglês *input* habitualmente utilizado.

Depois, uma segunda entrada (adição de ácido) transforma Cc em AH^+ (*trancar*). AH^+ é fotoquimicamente inactivo e tem um espectro de absorção claramente diferente de Ct pelo que pode ser opticamente detectado (*ler*). Quando se inicia o ciclo com Ct a pH 1 o passo *trancar* dá-se espontaneamente após o passo *escrever*, ao qual pode seguir-se imediatamente o passo *ler*. Depois um passo *destrancar* é conseguido por adição de base, reconvertendo AH^+ em Cc e por fim num passo *apagar* a Ct inicial pode ser regenerada e assim recomeçar um novo ciclo.

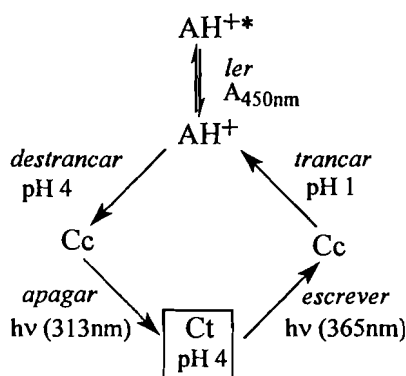


Figura 4.14 – Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo da espécie Ct.

No ciclo que acabou de ser descrito a espécie de partida Ct é fotoquimicamente activa pelo que não pode ser detectada sem *escrever*. No entanto se for construído um ciclo que se inicie com AH^+ a pH 1 isto já não acontece, ver figura 4.15. AH^+ , fotoquimicamente inactivo pode ser lido sem provocar escrita, depois o passo *destrancar* é conseguido por um salto de pH para 12 que leva à formação de Cc^{2-} . Esta última é a espécie utilizada para *escrever* (e *trancar* espontaneamente) uma vez que fotoquimicamente se converte em Ct^{2-} . Por sua vez Ct^{2-} pode ser opticamente detectada (*ler*) sem problemas dado ser fotoquimicamente inactiva. Por fim um passo *destrancar* por adição de ácido, seguido de um passo *apagar* por acção de luz colocam o sistema no estado inicial.

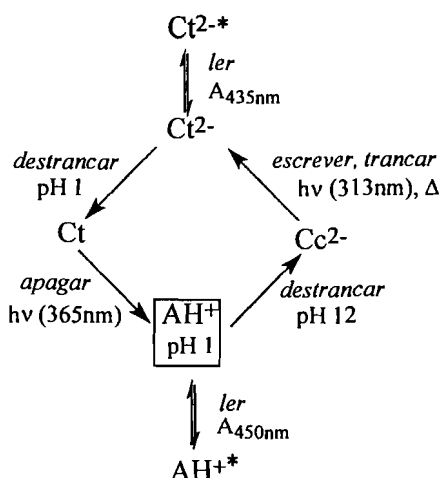


Figura 4.15 – Ciclo de escrever-trancar-ler-destrancar-apagar partindo da espécie AH^+ .

O esquema de transformações apresentado pelo 4'-hidroxiflavílio permite a construção de memórias temporárias e permanentes à semelhança das existentes no cérebro humano, ver figura 4.16. Partindo de Ct a pH 4, um passo *escrever* seguido de *trancar* conduz a AH^+ criando uma memória permanente. Neste momento um salto para pH 12 leva à formação de Cc^{2-} criando uma memória temporária, dado esta espécie lentamente se *apagar* originando Ct^{2-} , uma outra memória permanente. O sistema pode ser reinicializado por um salto de pH reverso para 4.

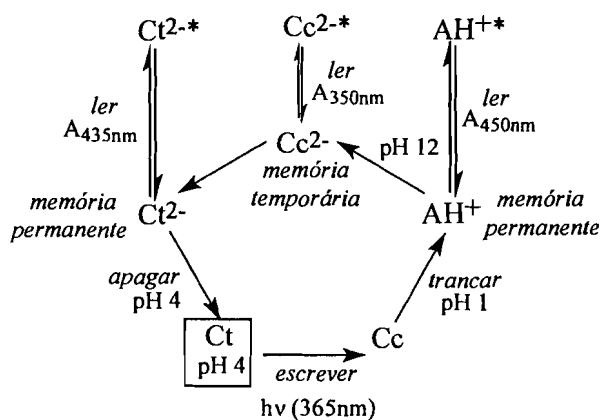
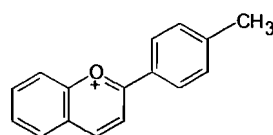


Figura 4.16 – Ciclo de escrever-trancar-ler-destrancar-apagar com dois níveis de memória.

4.5. Perclorato de 4'-metilflavílio^[56]



4.5.1. Soluções em meio ácido ou neutro

Tal como acontece no flavílio, quando uma solução de perclorato de 4'-metilflavílio a pH 1 contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}}=408\text{nm}$, $\epsilon=36500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 7, verifica-se um decréscimo da banda de absorção a 408nm e o aparecimento de bandas pouco intensas a menores comprimentos de onda compatíveis com a formação de B e Cc, ver figura 4.17. A razão entre a quantidade de AH^+ e B+Cc presentes quando é atingido um pseudo-equilíbrio alguns minutos após o salto de pH, depende do pH final da solução. Assim é possível através da representação da variação da Absorvância de AH^+ em função do pH, 30 minutos após o salto de pH, obter uma constante pK^a de 3.57 relativa ao pseudo-equilíbrio entre AH^+ e B+Cc (inserção na figura 4.17).

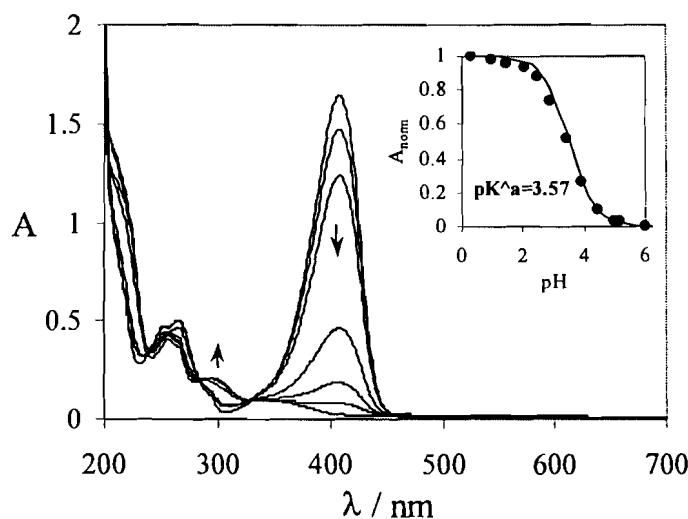


Figura 4.17 – Variação espectral 30 minutos após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 7, para o 4'-metilflavílio ($5 \times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Numa escala de tempo muito maior, o pseudo-equilíbrio anterior evolui e ao fim de cerca de 3 dias é atingido o equilíbrio final entre AH^+ e Ct, ver figura 4.18. A partir da

quantidade de Ct presente no equilíbrio final é possível determinar para este equilíbrio entre AH^+ e Ct uma constante pK'_a de 1.55.

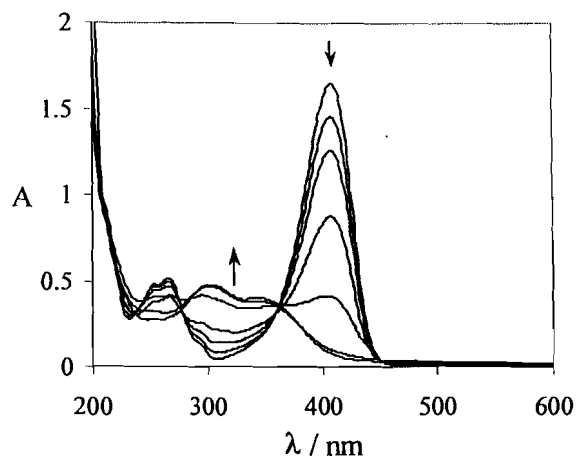


Figura 4.18- Variação espectral 3 dias após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 5, para o 4'-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} M$).

Os equilíbrios estabelecidos pelo 4'-metilflavílio em meio fracamente ácido ou neutro podem ser tratados como um único equilíbrio ácido-base em que o AH^+ se encontra em equilíbrio com a sua base conjugada BC constituída neste caso por B, Cc e Ct. A expressão obtida para a constante deste equilíbrio ácido-base será então dada por (ver apêndice 2):

$$K = K_h + K_h \times K_i + K_h \times K_i \times K_i \quad (4.4)$$

Como o pseudo-equilíbrio e o equilíbrio final se encontram separados no tempo, as expressões para as suas constantes de equilíbrio são dadas por :

$$K_a^{\wedge} = K_h + K_h \times K_i \quad (4.5)$$

$$K_a' = K_h + K_h \times K_i + K_h \times K_i \times K_i \quad (4.6)$$

Como foram determinados $pK_a=3.57$ e $pK'_a=1.55$, com o auxílio da constante de tautomerização $K_t=0.16$ determinada por McClelland,^[13] é possível determinar $K_h=2.32 \times 10^{-4}$ e $K_i=7.5 \times 10^2$.

Por outro lado, quando se segue o aparecimento de AH^+ após um salto para pH 1 de uma solução contendo Ct, verifica-se que este segue uma cinética de primeira ordem, cuja constante observada é dada por $k_{obs}=k_i+k_i \rightleftharpoons k_i$ e quando determinada a diferentes temperaturas permite através de um gráfico de Arrhenius determinar uma energia de activação de 87 kJmol^{-1} para a isomerização *cis-trans* que é o passo limitante deste processo.

Juntando a informação relativa às constantes de equilíbrio e à barreira de isomerização é possível construir o seguinte diagrama de energia para o 4'-metilflavílio.

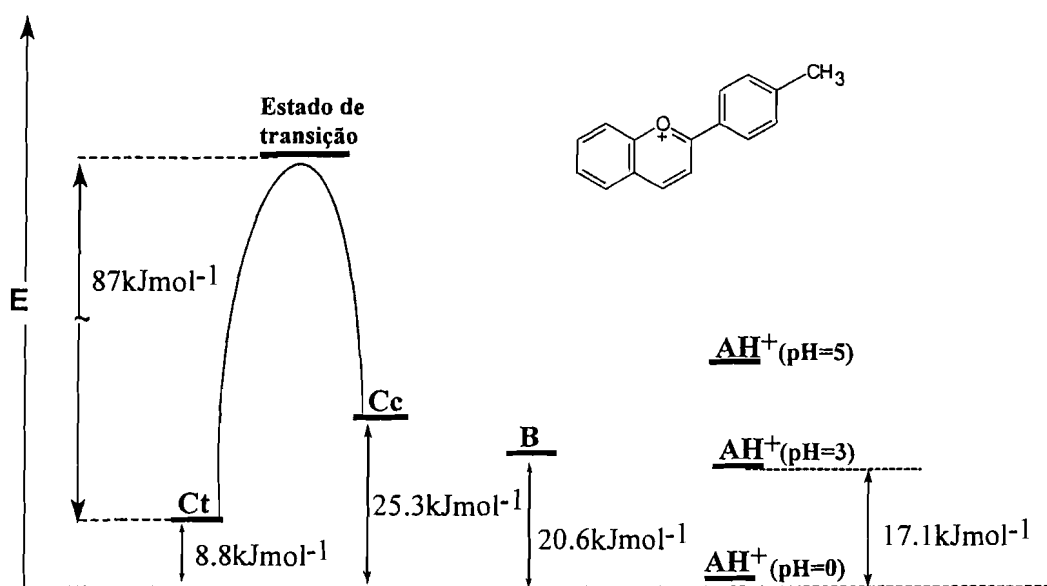


Figura 4.19 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 4'-metilflavílio.

4.5.2. Soluções em meio básico

Uma série de saltos de pH 1 para a gama de pH entre 8 e 12 mostra que a partir de pH 9 é visível a formação de uma nova banda a 420nm correspondente à formação de Cc

ionizada. Como a Cc ionizada só muito lentamente equilibra com a Ct ionizada, é possível após alguns minutos do salto determinar a constante de acidez de Cc a Cc^- , $pK_{ac}=9.6$, ver figura 4.20.

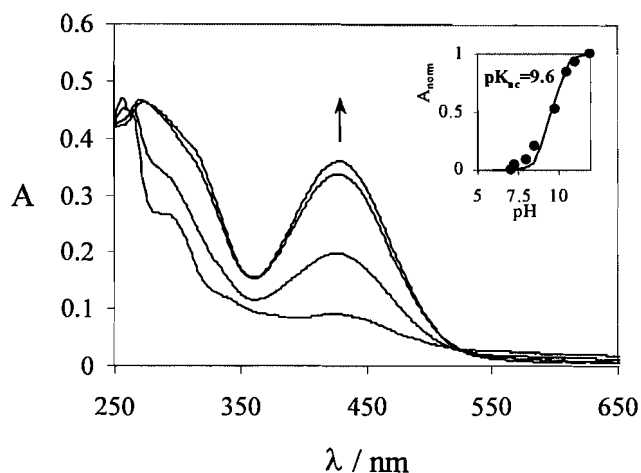


Figura 4.20- Variação espectral 30 minutos após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 8 e 12, para o 4'-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} M$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de Cc em função do pH.

Do mesmo modo uma série de saltos de uma solução equilibrada a pH 6 contendo exclusivamente Ct para a gama de pH entre 7 e 12 mostra a formação de uma nova banda a 430nm correspondente à formação de Ct ionizada a partir de Ct com uma constante de acidez de $pK_{ac}=8.75$.

Tendo em conta as constantes termodinâmicas determinadas até ao momento para as transformações estruturais apresentadas pelo 4'-metilflavílio em toda a gama de pH, é possível calcular a distribuição das fracções molares das várias espécies presentes, ver figura 4.21.

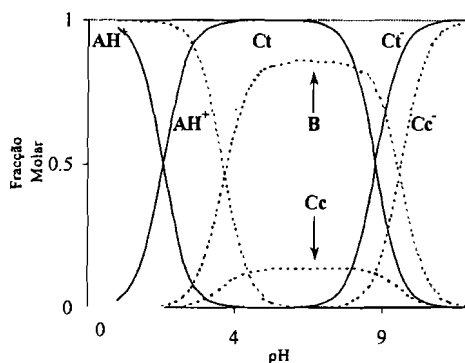


Figura 4.21 - Representação da distribuição das frações molares das espécies envolvidas nos equilíbrios estabelecidos pelo 4-metilflavílio: (—) pseudo-equilíbrio; (---) equilíbrio final.

4.5.3. Reactividade fotoquímica

4.5.3.1. Irradiação contínua

A irradiação contínua a 365nm de uma solução contendo Ct a pH 1 leva à recuperação de 100% de AH^+ com um rendimento quântico de 0.17, mostrando que a barreira da isomerização *cis-trans* pode ser superada fotoquimicamente, ver figura 4.22.

Se a irradiação contínua a 365nm for levada a cabo numa solução contendo Ct a pH 5.6 é visível um decréscimo de intensidade das bandas de absorção compatível com a formação de B e Cc, espécies maioritárias a este pH no pseudo-equilíbrio, ver figura 4.22.

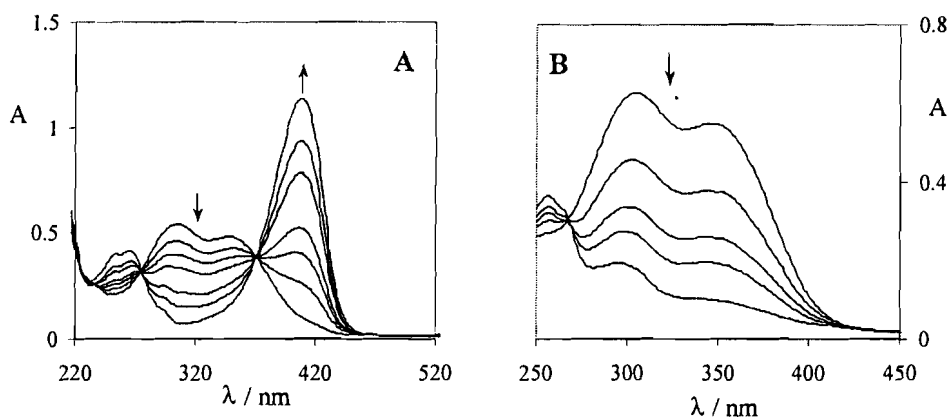


Figura 4.22 – Variação espectral após irradiação a 365nm de uma solução contendo Ct ($5 \times 10^{-5}M$) a: (A) pH 1, tempo de irradiação 0, 0.5, 2, 3, 6, 9, 12, 80min e (B) pH 5.6, tempo de irradiação 0, 0.5, 1, 1.5, 11min.

4.5.3.2. Fotólise por relâmpago

A fotólise por relâmpago de uma solução contendo Ct na gama de pH de 1.5 a 5.5 leva ao decréscimo da absorvância a 320nm durante o relâmpago, devido ao desaparecimento de Ct. Se a fotólise por relâmpago da Ct a pH 2.7 for seguida a 410nm é possível ver o aparecimento de AH^+ com uma cinética de primeira ordem ao longo de segundos, ver figura 4.23. Este resultado mostra que durante o relâmpago Ct é convertida em Cc, que só depois origina AH^+ em segundos. Por outro lado a fotólise por relâmpago da Ct a pH 5.5 seguida a 410nm não mostra nenhuma alteração, uma vez que a este pH os fotoprodutos Cc e B não originam AH^+ .

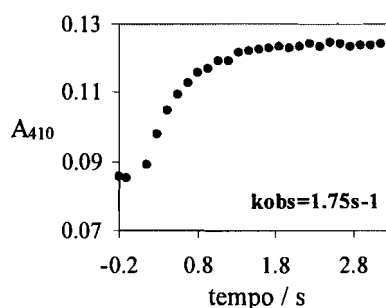


Figura 4.23 – Fotólise por relâmpago de uma solução contendo ct a pH 2.7 seguida a 410nm.

4.5.4. Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

Tal como o 4'-hidroxiflavílio, também o 4'-metilflavílio pode existir em várias formas termodinamicamente estáveis (AH^+ , Ct, Ct'), interconvertendo-se entre estas e outras formas transientes por acção de luz ou de alteração do pH. Assim, também é possível com este composto levar a cabo ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

Pode ser construído um ciclo (figura 4.24) a partir da espécie Ct termodinamicamente estável na região de pH de 3 a 7. A espécie Ct pode ser fotoquimicamente convertida na espécie Cc (*escrever*), e posteriormente uma segunda entrada (adição de ácido) transforma Cc em AH^+ (*trancar*) de forma a ser possível *ler*. Por fim um passo *destrancar* é conseguido por adição de base, que converte AH^+ em Cc ,

seguido de um passo *apagar* em que a Ct inicial é regenerada de modo a poder recomençar um novo ciclo. Quando se inicia o ciclo com Ct a pH 0 o passo *trancar* dá-se espontaneamente após o passo *escrever*, ao qual pode seguir-se imediatamente o passo *ler*. Depois um passo *destrancar* converte AH^+ em Cc por adição de base e finalmente um passo *apagar* transforma Cc em Ct. No entanto é necessário após *apagar* um novo passo *destrancar* que corresponde a acidificar para obter Ct a pH 0 e recomençar o ciclo.

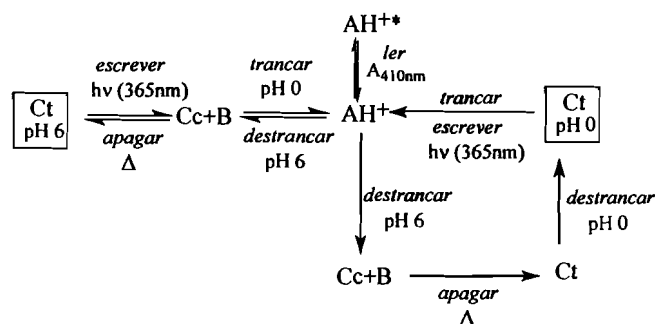


Figura 4.24 – Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo da espécie Ct a pH 6 ou 0.

Por outro lado pode ser construído um ciclo partindo de Ct a pH 2.6, em que fotoquimicamente Ct é convertida em AH^+ (*escrever*) que se pode *ler*. No entanto, a este pH AH^+ reverte a Ct em alguns dias pelo que esta é uma memória temporária. Mas se após *escrever* for introduzido um passo *trancar* em que AH^+ é colocado a pH 0, obtém-se uma memória permanente. É possível *ler* este nível de memória e depois *destrancar* basificando para pH 2.6, obtendo de novo uma memória temporária que se apaga espontaneamente em cerca de 3 dias à temperatura ambiente. Na prática, a reversibilidade deste ciclo é baixa tendo-se ao fim de 10 ciclos recuperado apenas 77% de AH^+ .

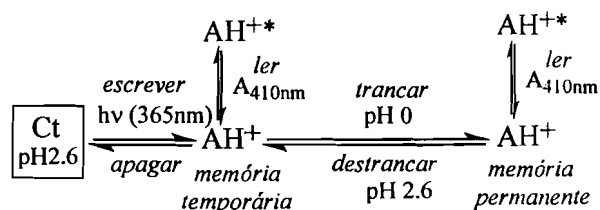
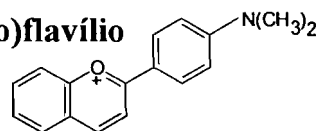


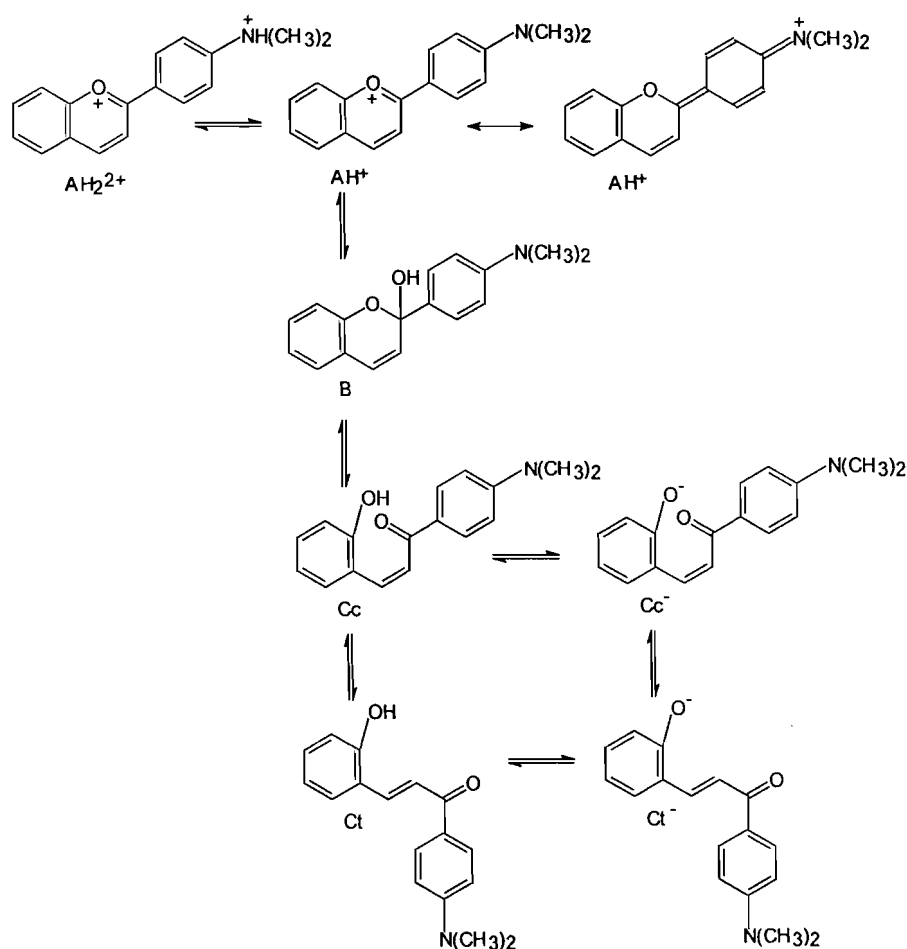
Figura 4.25 – Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* com dois níveis de memória partindo da espécie Ct a pH 2.6 para o 4'-metilflavílio.

4.6. Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio



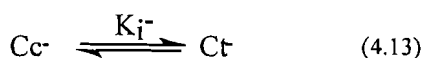
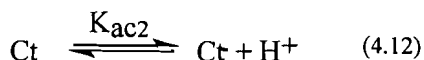
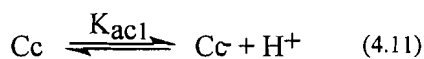
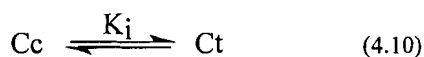
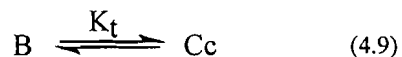
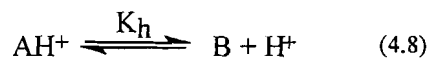
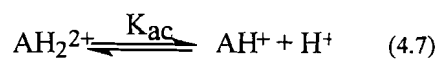
4.6.1. Soluções equilibradas

Devido à possibilidade do grupo dimetilamino protonar, o tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio tem a possibilidade de formar mais uma espécie (AH_2^{2+}) do que as habituais e consequentemente apresentar mais um equilíbrio em solução aquosa relativamente ao flavílio. Assim, neste caso, as possíveis transformações estruturais apresentadas por este composto em toda a gama de pH são as seguintes:

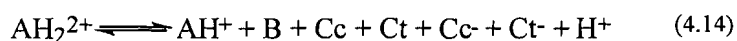


Esquema 4.2

Associados a estas transformações estruturais estão os seguintes equilíbrios:



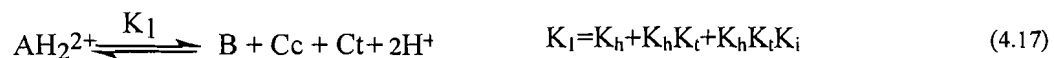
Os equilíbrios anteriores correspondem ao equilíbrio global:



Onde a fracção molar de AH_2^{2+} (α), deduzida no apêndice 2, é dada por:

$$\alpha = \frac{[\text{H}^+]^3}{[\text{H}^+]^3 + K_{ac}[\text{H}^+]^2 + K_{ac}(K_h + K_h K_t + K_h K_i K_i)[\text{H}^+] + K_{ac}(K_h + K_h K_t + K_h K_i K_i) \left(\frac{K_i K_{ac1} + K_i K_{ac1} K_{i^-}}{1 + K_i + K_i K_i} \right)} \quad (4.15)$$

De onde facilmente se extraem as constantes correspondentes aos três equilíbrios ácido-base presentes:



4.6.1.1. Pseudo-equilíbrio

Os espectros de absorção do tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio 1 hora após diversos saltos de pH -1 ([HCl]=10M) para a gama de pH entre -1 e 12 mostram como seria de esperar a existência de várias espécies. A pH -1 ([HCl]=10M) é visível uma banda correspondente a AH_2^{2+} ($\lambda_{\text{máx}}=435\text{nm}$, $\epsilon=45000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) que desaparece à medida que o pH aumenta dando origem a uma nova banda correspondente a AH^+ ($\lambda_{\text{máx}}=525\text{nm}$, $\epsilon=33450\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) que aumenta até pH 0.7 e se mantém constante após este pH até pH 4.4, ver figura 4.26. A representação da absorvância a 525nm em função do pH permite estimar um valor da constante de acidez pK_{ac} de cerca de -0.6. Este valor não é surpreendente uma vez que na posição *para* relativamente ao grupo dimetilamino se encontra o núcleo pirílio deficiente em electrões que contribui para a diminuição deste pK_{a} . Se for tomado como exemplo a anilina protonada que tem um pK_{a} de 4.6, a introdução de um grupo *nitro* (-NO₂) na posição *para* leva a uma diminuição do pK_{a} para 2.5^[60], o que ilustra bem o efeito de substituintes atractores de electrões em posições *orto* e *para* em relação a aminas protonadas.

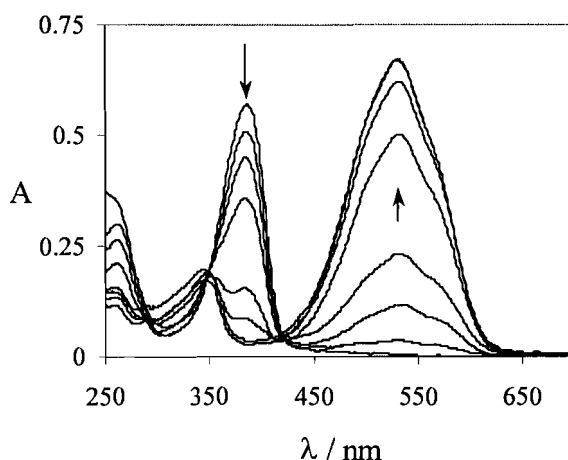


Figura 4.26 – Variação espectral 1 hora após diversos saltos de pH -1 para um pH final entre -1 e 4.4, para o 4'-(dimetil)aminoflavílio ($2 \times 10^{-5}\text{M}$), pH: -0.9, -0.77, -0.6, -0.48, -0.30, 1.0, 4.4.

Entre pH 4.4 e 8.4 a banda a 525nm correspondente a AH^+ decresce até desaparecer dando origem a uma nova banda a 366nm que aumenta até ser atingido pH 8.4, ver figura 4.27. A representação da absorvância a 525nm em função do pH (inserção na figura 4.27) permite calcular um pK_{ap1} de 6.85.

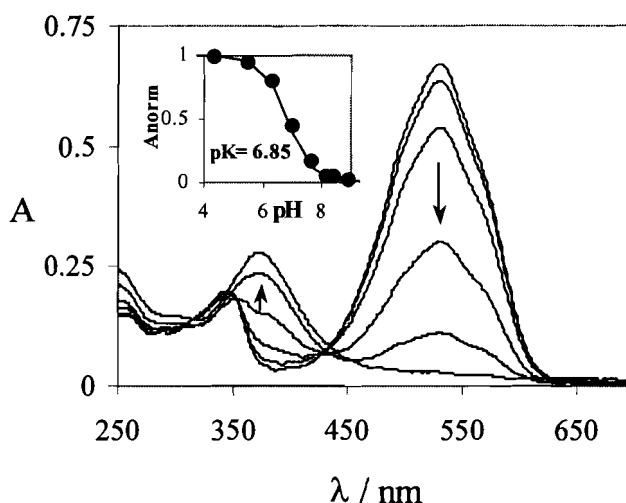


Figura 4.27 – Variação espectral 1 hora após diversos saltos de pH -1 para um pH final entre 4.4 e 8.4, para o 4'-(N,N-dimetil)aminoflavílio ($2 \times 10^{-5} M$), pH: 4.4, 5.5, 6.3, 7.1, 7.7, 8.5.

À primeira vista esta nova banda corresponderia à formação de B+Cc tanto mais que um salto reverso de pH 8.5 para 0 leva à recuperação imediata de 100% de AH^+ . No entanto a pH mais básico ($8 < pH < 12$) é possível ver que esta banda evolui com pontos isobésticos dando origem a uma banda crescente a 436nm atribuível a Ct ionizada, uma vez que um salto reverso de pH 12 para 0 leva à recuperação de 38% de AH^+ aparecendo os restantes 62% numa banda característica de Ct, ver figura 4.28. Esta peculiar situação faz supor que a banda que se forma a pH superior a 4.4 corresponde não a B + Cc mas sim a Cc ionizada.

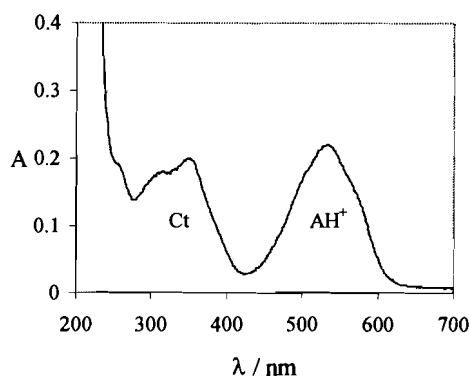


Figura 4.28 – Espectro de absorção após um salto para pH 0 de uma solução equilibrada 1h a pH 12.

Experiências de ^1H RMN (figura 4.29) confirmam que ao fim de 1 hora a espécie existente a pH 8.9 é a mesma que existe a pH 12 numa proporção de 40% em equilíbrio com 60% de Ct^- (facilmente identificável devido ao desvio químico e elevada constante de acoplamento dos prótons 3 e 4), pelo que a primeira é identificada como Cc^- .

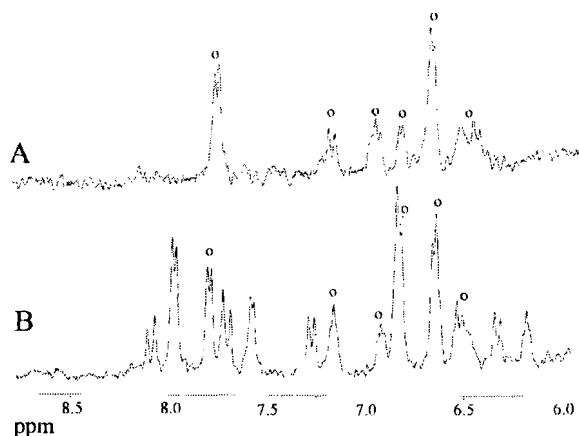
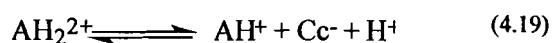


Figura 4.29 – Espectros de ^1H RMN do 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio ao fim de 1h a pH 8.9 (A) e 12 (B).

Pode então resumir-se que ao fim de 1 hora na gama de pH entre -1 e 8.5 está estabelecido um pseudo-equilíbrio, onde existe a $\text{pH}=-1$ AH_2^{2+} que ao desprotonar origina AH^+ ($\text{pK}_{\text{ac}} \cong -0.6$) que é a única espécie existente até pH 4.4. A partir deste pH e até pH cerca de 8.5, AH^+ equilibra com Cc^- com um pK_{ap1} de 6.85. Este comportamento pode ser explicado se considerarmos que o equilíbrio entre os tautómeros do AH^+ favorece o

tautómero com a amina deficiente de electrões e que a hidratação se dá através do tautómero com o oxigénio deficiente de electrões. Assim, quando o pH é suficientemente alto para que a hidratação seja favorecida (provavelmente via ataque de um ião hidroxilo e não de uma água) obrigando o equilíbrio tautomérico a deslocar-se no sentido do tautómero que pode hidratar, os produtos B e Cc são transientes originando de imediato Cc ionizada, mais estável a este pH. Por este motivo pode ser considerado o pseudo equilíbrio:



Onde a expressão (4.15) correspondente à fracção molar de AH_2^{2+} , se reduz a (ver apêndice 2):

$$\alpha = \frac{[\text{H}]^3}{[\text{H}]^3 + K_{ac}[\text{H}]^2 + K_{ac}K_hK_rK_{ac1}} \quad (4.20)$$

Com $K_{ac} \approx 10^{0.6}$ e $K_hK_rK_{ac1} = K_{apl} = 10^{-6.85}$, de onde a distribuição das fracções molares no pseudo-equilíbrio na gama de pH entre -1 e 8.5 é a representada na figura 4.30.

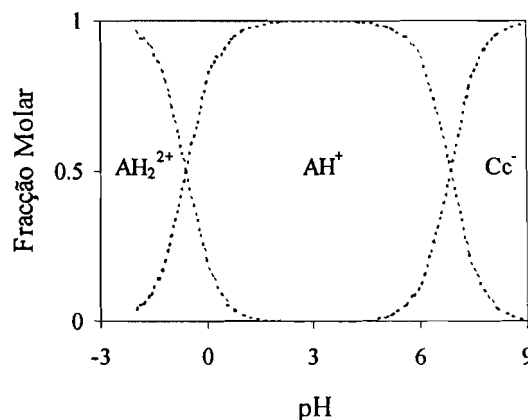


Figura 4.30 – Distribuição das fracções molares para o 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio no pseudo-equilíbrio.

Há ainda que ter em conta outra situação invulgar que se prende com o facto de ao fim de 1 hora existirem 100% de Cc^- a pH 8.5 e ao fim do mesmo tempo a pH 12 existirem cerca de 40% de Cc^- e 60% de Ct^- . Este resultado indica que na zona mais básica ao fim de 1 hora o

sistema já não está no pseudo-equilíbrio tendo evoluído no sentido da formação de Ct⁻, provavelmente devido à existência de catálise básica que acelera a isomerização *cis-trans* da chalcona ionizada.

4.6.1.2. Equilíbrio final

Após 15 dias à temperatura ambiente os espectros de absorção do 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio mostram que já foi atingido o equilíbrio final. A pH -1 ([HCl]=10M) é visível a banda correspondente a AH₂²⁺ que desaparece (pK_a ≅ -0.6) à medida que o pH aumenta dando origem à banda correspondente a AH⁺ que aumenta até pH 0.7 e se mantém constante até pH 3. A pH superior a 3, AH⁺ está em equilíbrio com Cc⁻ e Ct⁻ com um pK_{ap2}= 4.95, ver figura 4.31.

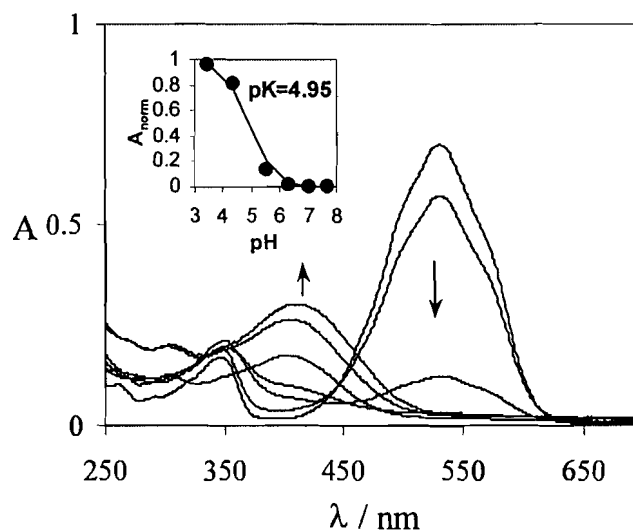
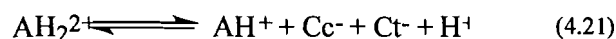


Figura 4.31 – Variação espectral 15 dias após diversos saltos de pH -1 para um pH final entre 3.5 e 11, para o 4'-(N,N-dimetil)aminoflavílio (2x10⁻⁵M), pH: 3.5, 4.4, 5.5, 6.3, 7.7, 8.5, 11.0.

O equilíbrio final será então o seguinte:



Onde a expressão (4.15) correspondente à fracção molar de AH_2^{2+} , se reduz a (ver apêndice 2):

$$\alpha = \frac{[H]^3}{[H]^3 + K_{ac}[H]^2 + K_{ac}(K_h K_i K_{ac1})(1 + K_{i-})} \quad (4.22)$$

Com $K_{ac} \cong 10^{0.6}$ e $(K_h K_i K_{ac1})(1 + K_{i-}) = K_{ap2} = 10^{-4.95}$. Como já anteriormente foi determinado $K_h K_i K_{ac1} = K_{ap1} = 10^{-6.85}$, facilmente se calcula $K_{i-} = 78.4$, correspondente à existência de 98.7% de Cf^- e 1.3% de Cc^- no equilíbrio. Este resultado encontra-se em razoável acordo, dentro do erro associado à determinação de fracções tão baixas ($A \cong 0.026$), com a recuperação imediata de cerca de 3.5% de AH^+ após um salto para pH 0 de uma solução equilibrada a pH 12, indicando a presença de cerca de 3.5% de Cc^- no equilíbrio. Assim, a distribuição das fracções molares no equilíbrio termodinâmico na gama de pH entre -1 e 8.5 é a representada na figura 4.32.

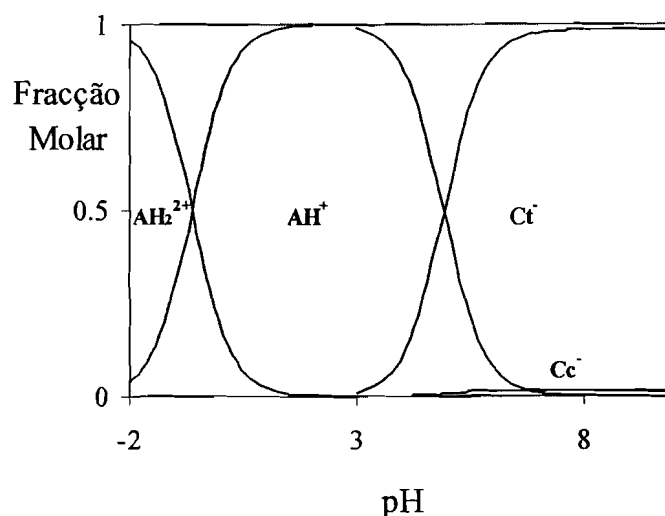


Figura 4.32 – Distribuição das fracções molares para o 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio no equilíbrio.

A partir desta distribuição de fracções molares no equilíbrio é possível construir o seguinte diagrama de energia para o 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio.

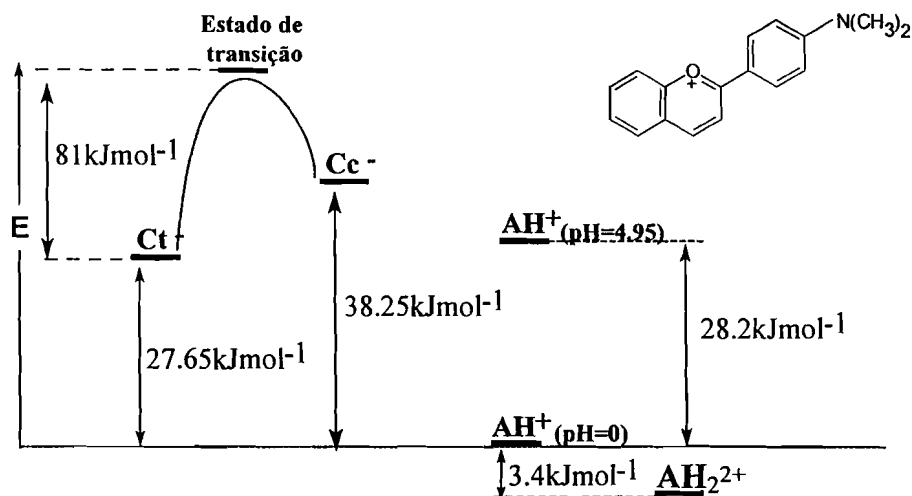


Figura 4.33 – Diagrama de energia das espécies presentes em equilíbrio no 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio.

4.6.2. Soluções não equilibradas

Um salto de pH 0 para pH 8.7 leva ao aparecimento imediato de Cc ionizada que ao longo de cerca de 3 horas a 60°C se converte em Ct ionizada, ver figura 4.34, através de uma cinética de primeira ordem com uma constante observada de $2.1 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (inserção na figura 4.34). Um salto reverso para pH 0 da solução equilibrada em Ct a pH 8.7 conduz ao aparecimento de Ct.

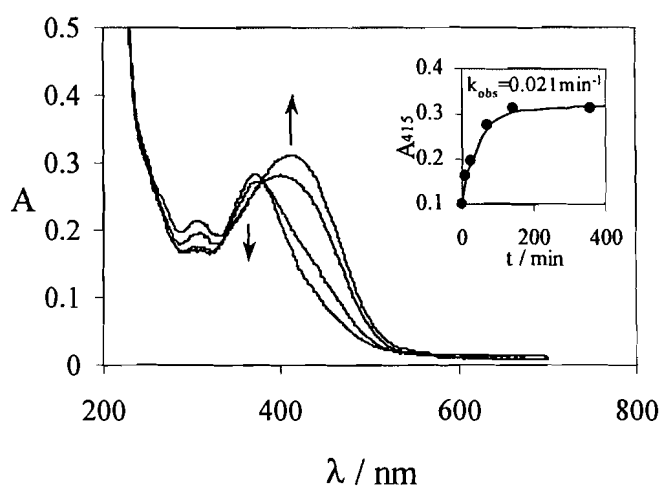


Figura 4.34 – Variação espectral após um salto de pH 0 para 8.7 numa solução de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio ($2 \times 10^{-5} \text{ M}$) a 60°C. Na inserção está a absorbância a 415nm *versus* tempo.

Se o salto de pH 0 para pH 8.7 for seguido a 20°C a Cc ionizada converte-se em Ct ionizada ao longo de cerca de 12 dias através de uma cinética de primeira ordem que apresenta uma constante observada de cerca de 0.021h^{-1} . As constantes observadas para este processo a 60°C e a 20°C permitem através de um gráfico de Arrhenius estimar uma energia de activação de 81 kJmol^{-1} para a isomerização *cis-trans* da chalcona ionizada.

Um salto de pH 0 para pH 12.6 leva igualmente ao aparecimento imediato de Cc ionizada que ao longo de cerca de 3 horas a 60°C se converte em Ct ionizada, através de uma cinética de primeira ordem com uma constante observada de $2.6 \times 10^{-2}\text{min}^{-1}$.

Posteriormente o aquecimento a 60°C de uma solução contendo Ct a pH 0 obtida do modo descrito anteriormente conduz ao aumento gradual de AH^+ (figura 4.35) até se atingirem 100%, num processo controlado pela velocidade da isomerização *cis-trans* exibindo uma cinética de primeira ordem com uma constante observada de $5.2 \times 10^{-3}\text{min}^{-1}$ (inserção na figura 4.35). A repetição desta experiência a 50°C e a 40°C conduziu respectivamente a constantes observadas de $1.8 \times 10^{-3}\text{min}^{-1}$ e $7.0 \times 10^{-4}\text{min}^{-1}$, permitindo determinar através de um gráfico de Arrhenius uma energia de activação de 85 kJmol^{-1} para a isomerização *cis-trans* da chalcona não ionizada.

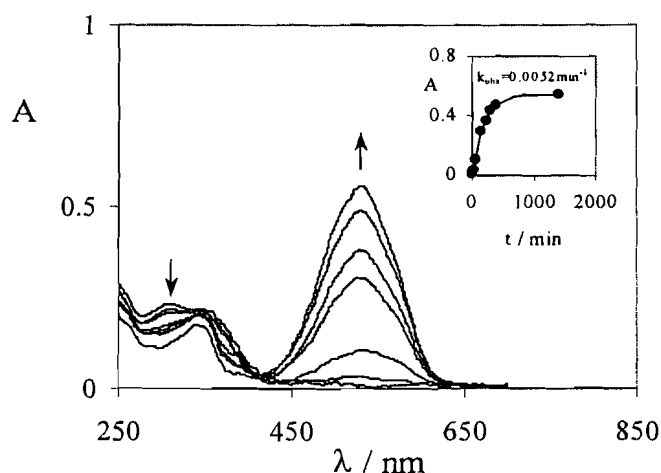


Figura 4.35 – Variação espectral de uma solução de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio ($2 \times 10^{-5}\text{M}$) contendo 100% de Ct a pH 0 a 60°C. Na está a absorvância a 522nm em função do tempo.

4.6.3. Reactividade fotoquímica

A irradiação a 365nm de uma solução contendo 100% de Ct a pH 0 conduz à total recuperação de AH^+ em 72 minutos, com um rendimento quântico $\Phi=0.57$.

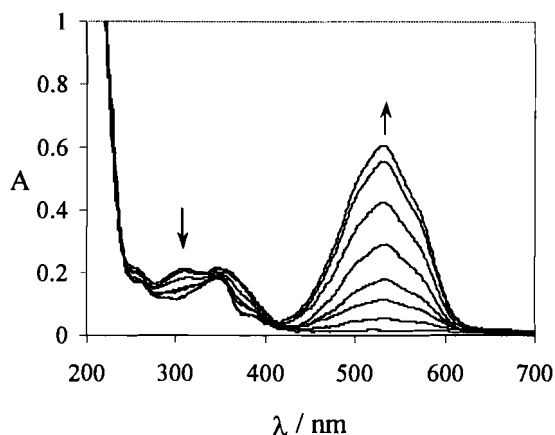


Figura 4.36 – Irradiação a 365nm de uma solução de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio contendo 100% de Ct a pH 0. Tempo de irradiação: 0, 1, 3, 6, 12, 22, 42, 72min.

4.6.4. Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

Tal como nos casos anteriores, é possível com o 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio levar a cabo ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* com este composto. Neste caso o ciclo é bastante interessante uma vez que apresenta a possibilidade de exibir dois níveis de memória (permanente e temporária), sendo a memória temporária já consideravelmente estável (cerca de 2 semanas à temperatura ambiente até ser espontaneamente apagada). Assim, pode ser construído um ciclo menor baseado numa memória temporária, que não necessita dos passos *trancar/destrancar* mas apenas de *escrever-ler-apagar*.

Na figura 4.37 encontra-se o ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* que pode ser construído baseado no 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio.

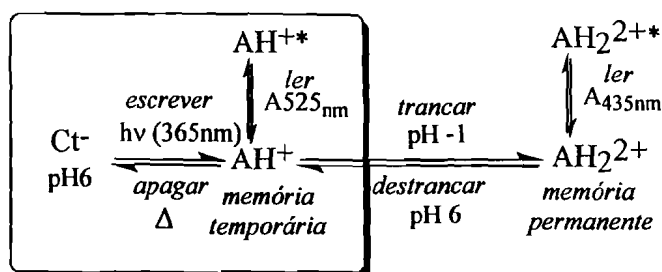
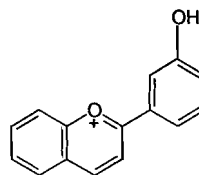


Figura 4.37 – Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo da espécie Ct^- a pH 6.

A espécie Ct^- , produto termodinâmico a pH 6 pode ser fotoquimicamente convertida na espécie AH^+ (*escrever*), originando uma memória temporária uma vez que esta última reverte a Ct^- em cerca de 2 semanas à temperatura ambiente. A espécie AH^+ pode ser opticamente detectada (*ler*) e posteriormente por aquecimento a 60°C (*apagar*) reconvertida em Ct^- em cerca de 3 horas. Por outro lado uma segunda entrada (adição de ácido) pode transformar o AH^+ em AH_2^{2+} (*trancar*) originado uma memória permanente (estável durante meses). AH_2^{2+} pode ser opticamente detectado (*ler*), mas neste caso é necessário um outro passo *destrancar* (adição de base), que permita a reconversão em AH^+ (memória temporária) que se pode *apagar*. Esta particularidade permite armazenar informação i) numa memória temporária que se apaga espontaneamente em cerca de 2 semanas, ii) numa memória permanente estável durante meses, e iii) numa memória permanente estável durante meses e posteriormente passar essa informação à memória temporária onde ainda pode ser recuperada durante algum tempo.

4.7. Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio

4.7.1. Soluções em meio ácido ou neutro



Quando uma solução de perclorato de 3'-hidroxiflavílio a $\text{pH}=0$ contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}}=380\text{nm}$, $\epsilon=19100\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 8, primeiro verifica-se pela alteração de cor da solução a formação de base quinoidal que muito rapidamente desaparece levando ao aparecimento de bandas pouco intensas a menores comprimentos de onda compatíveis com a formação de B e Cc, ver figura 4.38. Após cerca de 40 minutos dos saltos de pH atinge-se um pseudo-equilíbrio, cujas fracções de AH^+ e B+Cc presentes depende do pH final da solução. É então possível, através da representação da variação da absorvância de AH^+ em função do pH , obter uma constante pK^{a} de 2.7 relativa ao pseudo-equilíbrio entre AH^+ e B+Cc (inserção na figura 4.38). Como já foi visto em vários casos, nesta situação $\text{K}^{\text{a}}=\text{K}_{\text{a}}+\text{K}_{\text{h}}+\text{K}_{\text{h}}\text{K}_{\text{t}}=1.99\times 10^{-3}$ (4.5), devido a não se ter formado ainda Ct.

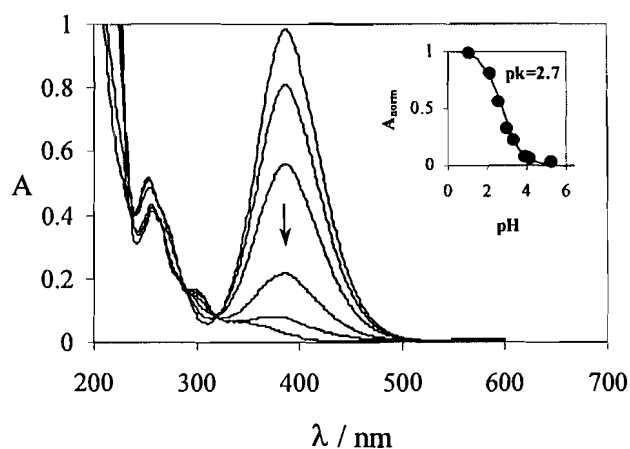


Figura 4.38 – Variação espectral 40 minutos após diversos saltos de pH 0 para um pH final entre 1 e 7, para o 3'-hidroxiflavílio ($5\times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção representa-se a fracção molar de AH^+ *versus* pH .

O pseudo-equilíbrio anterior evolui e ao fim de cerca de 4 dias é atingido o equilíbrio final entre AH^+ , B+Cc e Ct, ver figura 4.39. Deste modo a variação da

absorvância de AH^+ em função do pH (inserção na figura 4.39) permite calcular $K'_a = K_a + K_h + K_h K_t + K_h K_t K_i = 1.58 \times 10^{-2}$ (4.6).

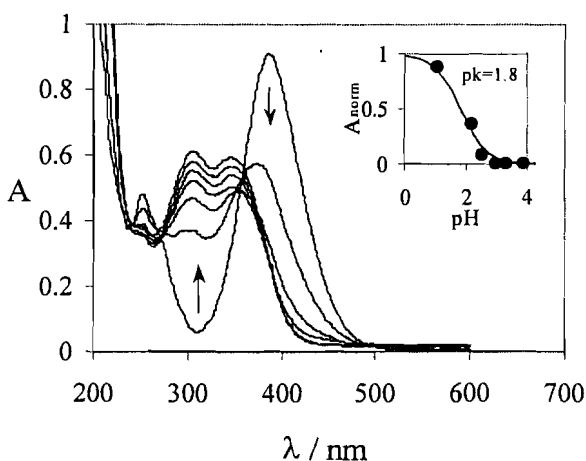


Figura 4.39- Variação espectral 4 dias após diversos saltos de pH 0 para um pH entre 1 e 8, para o 3'-hidroxiflavílio ($5 \times 10^{-5} M$). Na inserção está a variação da absorvância normalizada de AH^+ versus pH.

Sabendo K_a e K'_a é possível determinar $K'_a - K_a = K_h K_t K_i = 1.38 \times 10^{-2}$. Mas também se pode deduzir (apêndice 2) que a fracção molar de Ct no equilíbrio, na gama de pH onde não há AH^+ ($pH \gg pK'_a$), é dada por

$$\chi_{Ct} = K_h K_t K_i / K'_a \quad (4.23)$$

De onde vem $\chi_{Ct} = 87.4\%$. Pode então ser calculada a distribuição das fracções representada na figura 4.40.

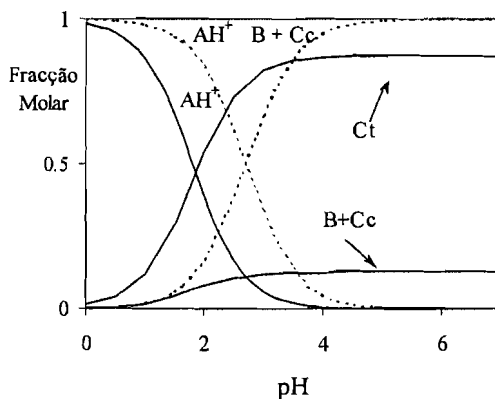


Figura 4.40 – Distribuição das fracções molares para o 3'-hidroxiflavílio no pseudo-equilíbrio e no equilíbrio.

Por outro lado, quando se segue o desaparecimento de Ct após um salto para pH 2.2 de uma solução estabilizada a pH 11 (100% de Ct⁻ como se verá mais adiante), verifica-se que este segue uma cinética de primeira ordem (inserção na figura 4.41), cuja constante observada é dependente da temperatura: 0.014 h⁻¹, 0.115h⁻¹, 0.36h⁻¹, 0.7h⁻¹ respectivamente a 28°C, 50°C, 58°C e 64°C. Através de um gráfico de Arrhenius (figura 4.41) é possível determinar uma energia de activação de 89 kJmol⁻¹ para a isomerização *cis-trans* que é o passo controlador deste processo.

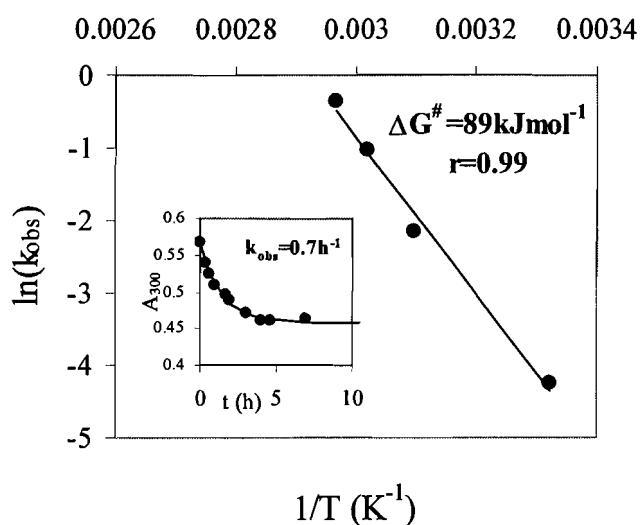


Figura 4.41 – Gráfico de Arrhenius de onde se retira $E_a = 89 \text{ kJmol}^{-1}$ para . Na inserção representa-se a variação da absorvância de Ct ao longo do tempo a pH 2.2 e 64°C.

Juntando a informação relativa às constantes de equilíbrio e à barreira de isomerização é possível construir o seguinte diagrama de energia para o 3'-hidroxiflavílio.

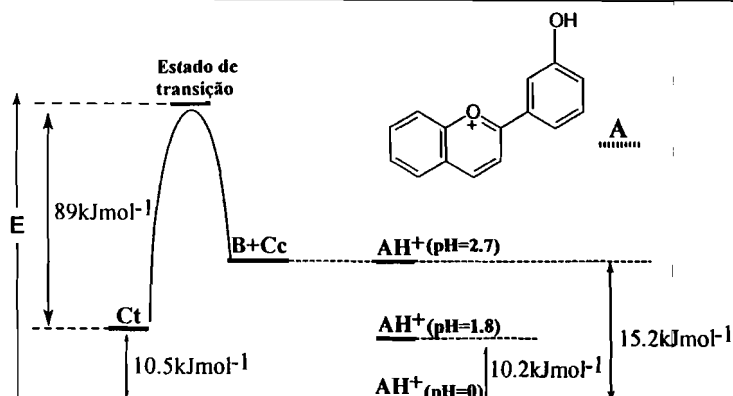


Figura 4.42 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 3'-hidroxilflavílio.

4.7.2. Soluções em meio básico

Uma série de saltos de pH 1 para a gama de pH entre 8 e 12 mostra que a partir de pH 8 é visível a formação de novas bandas a 306 e a 410nm correspondentes à formação de Cc e Ct ionizadas. A isomerização da chalcona ionizada ocorre mais rapidamente que a isomerização da forma neutra pelo que ao fim de 40 minutos em meio básico o sistema já não se encontra no pseudo-equilíbrio ao contrário do que sucede em meio ácido e neutro. Quando o equilíbrio é atingido após 24 horas dos saltos de pH (figura 4.43), é possível determinar um pK_{ap} de 9.5 (inserção na figura 4.43) para o aparecimento de Ct ionizada.

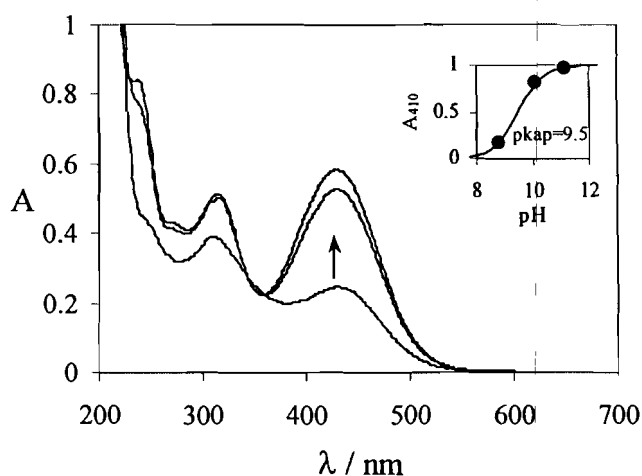


Figura 4.43- Variação espectral 1 dia após diversos saltos de pH 0 para um pH entre 8 e 12, para o 3'-hidroxilflavílio ($5 \times 10^{-5} M$). Na inserção está a variação da absorbância normalizada de Ct *versus* pH.

Um salto de uma solução equilibrada a pH 11.5 para pH 0 leva ao aparecimento de 100% de Ct, evidenciando que Ct é a única espécie no equilíbrio em meio muito básico.

4.7.3. Reactividade fotoquímica

A irradiação contínua a 365nm de uma solução contendo Ct a pH 0, obtida por reacidificação de uma solução equilibrada 2 dias a pH 11.5, leva à recuperação de 100% de AH^+ com um rendimento quântico de 0.037, mostrando que a barreira da isomerização *cis-trans* pode ser superada fotoquimicamente, ver figura 4.44.

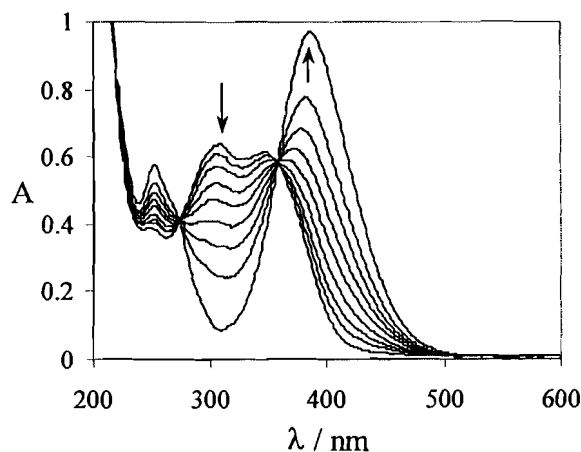


Figura 4.44 – Variação espectral após irradiação a 365nm de uma solução contendo Ct ($5 \times 10^{-5} M$) a: pH 0, tempo de irradiação 0, 1, 2, 4, 6, 9, 13, 20, 40min.

Se a irradiação contínua a 365nm for levada a cabo numa solução contendo 100% de Ct a pH 6.7, obtida por reacidificação de uma solução equilibrada 2 dias a pH 11.5, é visível um decréscimo de intensidade das bandas de absorção correspondente à formação de 100% de Cc com um rendimento quântico de 0.058 (figura 4.45). Posterior reacidificação desta solução irradiada para pH 0 leva à formação imediata de 100% de AH^+ , mostrando que a conversão fotoquímica de Ct em Cc foi total.

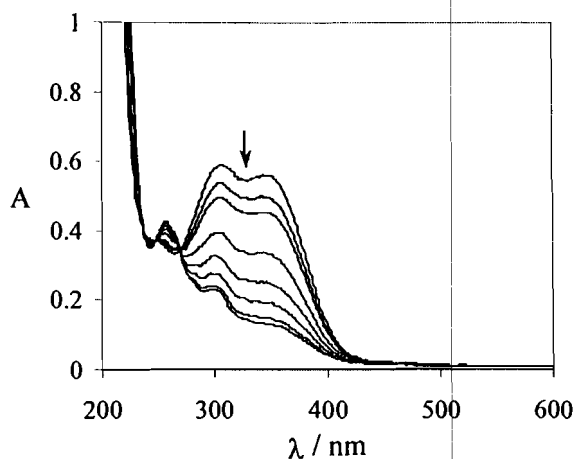


Figura 4.45 – Variação espectral após irradiação a 365nm de uma solução contendo Ct (5×10^{-5} M) a pH 6.7; tempo de irradiação 0, 1, 2, 5, 8, 9, 11, 16, 20min.

4.7.4. Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

Tal como acontece com os anteriores compostos, o 3'-hidroxiflavílio também permite construir ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

Pode ser construído um ciclo (figura 4.46) a partir da espécie Ct a pH 6, que pode ser fotoquimicamente convertida na espécie Cc (*escrever*), e posteriormente uma segunda entrada (adição de ácido) transforma Cc em AH^+ (*trancar*) de forma a ser possível *ler*. Por fim um passo *destrancar* converte AH^+ em Cc, seguido de um passo *apagar* em que a Ct inicial é regenerada de modo a poder recomeçar um novo ciclo.

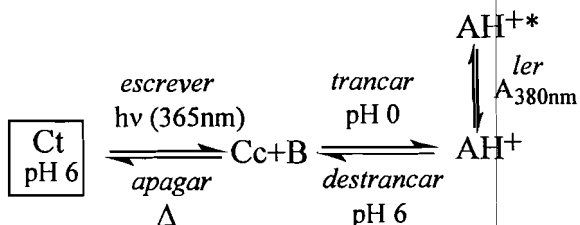


Figura 4.46 – Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo da espécie Ct a pH 6.

No entanto é necessário não esquecer que no equilíbrio a pH 6 existem 87.4% de Ct e 12.6% de B + Cc. Por isso se se desejar trabalhar com 100% de Ct é necessário um

construir um ciclo diferente que inclua meio básico (figura 4.47). Partindo de Ct a pH 0, esta é fotoquimicamente convertida em AH^+ (*escrever*) que se pode *ler*. Depois segue-se um passo *destrancar* basificando para pH 12, obtendo Cc^- que se pode *apagar* obtendo Ct. No entanto é necessário uma outra entrada para obter Ct a pH 0 e recomeçar o ciclo.

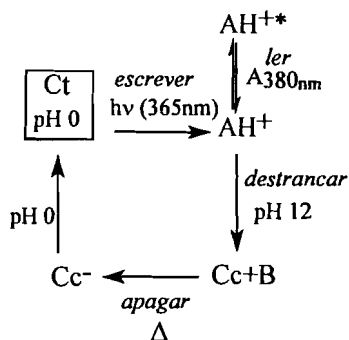


Figura 4.47 – Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo de 100% de Ct a pH 0.

4.8. Conclusão

Os sais de flavílio apresentados neste capítulo (flavílio não substituído e substituído na posição 3' ou 4') têm a chalcona *trans* como forma maioritária ou única no equilíbrio, ao contrário do que acontece com os compostos estudados nos capítulos anteriores em que o equilíbrio se estabelece entre o catião flavílio e a base quinoidal (4-metil substituídos) ou entre o catião flavílio e o hemiacetal e chalcona *cis* (3-metil substituídos).

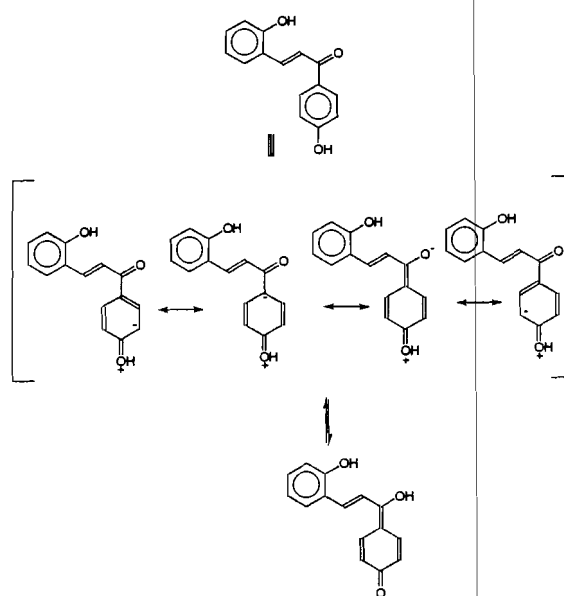
Apesar da Ct ser a espécie maioritária no equilíbrio final, a isomerização *cis-trans* que antecede a sua formação é em geral o processo mais lento (horas a semanas) dos envolvidos nas transformações estruturais que se dão quando AH^+ é colocado a um pH fracamente ácido ou neutro onde já não é a espécie termodinamicamente mais estável. Este facto leva a que seja estabelecido numa escala de tempo muito menor (minutos a horas) um primeiro pseudo-equilíbrio entre AH^+ e A, B e Cc, que ao longo do tempo evolui para o equilíbrio final com Ct.

A extrema lentidão da isomerização nestes compostos prende-se com a existência de uma barreira cinética que separa as espécies Cc e Ct. A barreira de isomerização varia com a natureza dos substituintes conforme se vê na tabela 4.2.

Tabela 4.2

Composto	E_a isomerização <i>cis-trans</i>
flavílio	89 kJmol ⁻¹
4'-metoxiflavílio	93 kJmol ⁻¹
4'-hidroxiflavílio	129 kJmol ⁻¹
4'-metilflavílio	87 kJmol ⁻¹
4'-(N,N-dimetilamino)flavílio	85 kJmol ⁻¹
3'-hidroxiflavílio	89 kJmol ⁻¹

Como será discutido aprofundadamente no capítulo 6, o aumento da barreira está ligado ao efeito doador de electrões por ressonância dos substituintes no anel B. Nos compostos apresentados na tabela 4.2 verifica-se que apesar de todos os substituintes na posição 4' em causa terem capacidade de doar electrões por ressonância estabilizando as formas de ressonância da chalcona com maior densidade de carga nas posições *orto* e *para* em relação ao grupo carbonilo e no próprio carbonilo, apenas o hidroxilo na posição 4' permite formar um tautómero estável através do anel B (esquema 4.3).

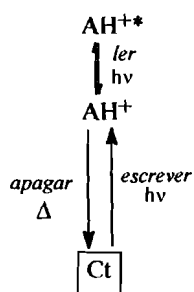
Esquema 4.3^r

^r No esquema não se encontram deliberadamente representadas todas as formas de ressonância possíveis mas apenas as relevantes para a discussão, ou seja, as que resultam da substituição na posição 4'.

Assim, é natural que a substituição de um grupo hidroxilo na posição 4' apresente um efeito notório na barreira de isomerização que aumenta em 40 kJmol^{-1} . No entanto deve notar-se que a substituição de um grupo hidroxilo na posição 3' não provoca uma alteração visível na mesma barreira, porque nesta posição o hidroxilo pode entrar em ressonância com o anel B mas não contribui para estender a ressonância ao grupo carbonilo, não sendo possível existir uma forma tautomérica através do anel B.

Conforme referido na introdução, a existência de chalcona *trans* como forma maioritária no equilíbrio aliada à barreira cinética da isomerização permite através de ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* projectar modelos de dispositivos de memória óptica a nível molecular, construindo sistemas de armazenamento de informação múltiplos e com capacidade de leitura não destrutiva. Os ciclos possíveis de executar com cada um dos sais de flavílio estudados já foram largamente analisados ao longo deste capítulo, pelo que agora se torna pertinente não a descrição desses ciclos mas sim a comparação entre eles.

Não tendo em conta as capacidades particulares de cada composto é possível considerar um ciclo genérico que possa ser levado a cabo por todos eles, partindo de Ct a um pH em que o passo *escrever* seja sempre acompanhado de um passo *trancar* espontâneo (esquema 4.4), ou seja, quando se irradia Ct esta origina Cc que espontaneamente reverte a AH^+ . Este pH corresponde ao ponto de intersecção das curvas de distribuição molar de Ct no equilíbrio e AH^+ no pseudo-equilíbrio, isto é, ao pH de compromisso ao qual as fracções molares de Ct e de AH^+ são máximas respectivamente no equilíbrio e no pseudo-equilíbrio. O 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio não será considerado na discussão que se segue, uma vez que a inexistência de Ct no equilíbrio impede uma comparação directa das características do ciclo que se pode levar a cabo com este composto com os restantes.



Esquema 4.4

Considerando o ciclo representado no esquema 4.3, o passo *escrever* depende de i) absorção de luz por Ct, ii) rendimento quântico da fotoisomerização *trans-cis*, e iii) velocidade do passo *trancar* espontâneo. Em relação à absorção de luz por Ct, comparando os espectros dos diversos compostos verifica-se que o melhor comprimento de onda para *escrever* é cerca de 310nm, onde a diferença entre os coeficientes de absortividade molar de Ct e de AH^+ é máxima. A diferença entre os coeficientes de absortividade molar de Ct e de AH^+ a 310nm para os vários compostos varia entre 10000 $M^{-1}cm^{-1}$ e 17000 $M^{-1}cm^{-1}$, sendo a mais alta correspondente ao 4'-hidroxiflavílio e a mais baixa correspondente ao 4'-metilflavílio, ver tabela 4.3. O rendimento quântico da fotoisomerização *trans-cis* é muito aproximado para todos os compostos, cerca de 0.04, excepto para o 4'-metilflavílio que apresenta um rendimento quântico de 0.17 (cerca de 4 vezes superior), no entanto é preciso não esquecer que a diferença entre os coeficientes de absortividade molar de Ct e AH^+ para este último é quase metade da encontrada para os outros compostos. Por último, a velocidade com que se dá o passo *trancar* espontâneo depende da velocidade com que Cc tautomeriza a B e com que B desidrata a AH^+ , sendo o primeiro determinante. Na tabela 4.3 estão os valores da constante de velocidade de tautomerização de Cc a B (k_1) para cada um dos compostos, sendo a mais elevada encontrada para o flavílio ($2.4s^{-1}$) e a mais baixa ($0.22s^{-1}$) para o 4'-hidroxiflavílio.

No que diz respeito a *ler*, o melhor comprimento de onda para o fazer será aquele a que a diferença entre os coeficientes de absortividade molar de AH^+ e de Ct seja máxima, o

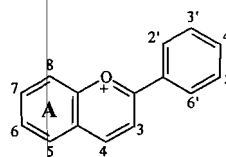
que quase sempre acontece ao comprimento de onda de absorção máxima do AH^+ . A maior diferença é de $41000 M^{-1} cm^{-1}$ para o 4'-hidroxiflavílio e a menor de $16000 M^{-1} cm^{-1}$ para o 3'-hidroxiflavílio. Quanto ao *apagar* que quase sempre é levado a cabo a $60^\circ C$, corresponde a superar termicamente a barreira da isomerização *cis-trans*. Comparando as constantes de velocidade observadas a $60^\circ C$ para o desaparecimento de AH^+ para todos os compostos (tabela 4.3) verifica-se que não variam muito, sendo a mais elevada encontrada para o flavílio ($5.3 \times 10^{-4} s^{-1}$) e a menor encontrada para o 4'-metilflavílio ($1.0 \times 10^{-4} s^{-1}$).

Tabela 4.3

	pH	$\approx \Delta \epsilon_{310}$ ($M^{-1} cm^{-1}$)	$\Phi_{Ct \rightarrow Cc}$	k_t (s^{-1})	$\Delta \epsilon_{\lambda_{máx} AH^+}$ ($M^{-1} cm^{-1}$)	$K_{obs\ 60^\circ C\ Cc \rightarrow Ct}$ (s^{-1})
Flavílio	2.2	13000	0.05 ^[55]	2.4 ^[55]	31000	5.3×10^{-4} ^[55]
4'-metoxiflavílio	3.0	16000	0.04 ^[55]	0.63 ^[55]	39000	2.0×10^{-4} ^[55]
4'-hidroxiflavílio	3.2	17000	0.04	0.22 ^[55]	41000	1.1×10^{-4} ^[55]
4'-metilflavílio	2.8	10000	0.17	0.96 ^[13]	35000	3.3×10^{-4}
3'-hidroxiflavílio	2.3	11000	0.04	-	16000	1.0×10^{-4}

Resumindo, no que diz respeito a *escrever* o 4'-hidroxiflavílio é o que apresenta uma maior diferença entre a absorção de luz por Ct e por AH^+ , no entanto é também aquele que apresenta uma tautomerização de Cc a B mais lenta. Por outro lado o rendimento quântico da fotoisomerização *trans-cis* no 4'-metilflavílio é o mais elevado, mas é precisamente este composto que apresenta uma menor diferença entre a luz absorvida por Ct e AH^+ a 310nm. No que diz respeito a *ler*, todos os compostos apresentam diferenças entre os coeficientes de absorvidade molar de AH^+ e de Ct no máximo de absorção de AH^+ muito aproximadas, excepto o 3'-hidroxiflavílio que apresenta comparativamente uma diferença bastante menor. Quanto ao *apagar*, a constante de velocidade observada para transformação de AH^+ em Ct a $60^\circ C$ é semelhante para todos os compostos. Assim, não há um de entre os compostos estudados que seja notoriamente melhor do que os outros para levar a cabo ciclos de *escrever*-(*trancar*)-*ler*-(*destrancar*)-*apagar*.

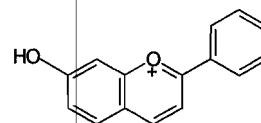
Capítulo 5. Flavílios substituídos no anel A.



5.1.Introdução

A substituição de sais de flavílio no anel A, tal como acontecia com a substituição no anel B, conduz à existência de chalcona *trans* como espécie maioritária no equilíbrio a pH fracamente ácido ou neutro.^[44, 52, 57, 61] No entanto, ao contrário do que acontece com a substituição em 4', a substituição de um grupo hidroxilo na posição 7 leva a que a barreira cinética da isomerização *cis-trans* da chalcona seja muito baixa, impedindo o uso destes compostos em memórias ópticas.^[57] O efeito da substituição nas posições 6 e 7 na intensidade da barreira da isomerização *cis-trans* da chalcona e consequente implicação na possibilidade de uso destes compostos como dispositivos ópticos de memória é discutido ao longo deste capítulo.

5.2.Cloreto de 7-hidroxiflavílio



O cloreto de 7-hidroxiflavílio foi estudado em 1998 por Pina, Maestri e Balzani^[57] que através de saltos de pH, ¹H RMN e irradiações contínuas e pulsadas, concluíram que as transformações que ocorrem quando este composto é colocado em meio fracamente ácido ou neutro são muito diferentes das que ocorrem com os flavílios não substituídos nesta posição. Em meio fortemente ácido o catião flavílio ($\lambda_{\text{máx}}=435\text{nm}$) é a espécie termodinamicamente estável. O aumento do pH conduz à imediata transformação do catião flavílio em base quinoidal, que seguidamente equilibra com a chalcona *trans* através do hemiacetal e da chalcona *cis*. Atendendo a que Cc isomeriza rapidamente a Ct, não há formação de um pseudo-equilíbrio entre AH^+ e $\text{B}+\text{Cc}$, desaparecendo estes últimos assim

que se formam. O equilíbrio final que se atinge em cerca de duas horas é constituído por 15% de A e 85% de Ct.

As constantes cinéticas e termodinâmicas, à temperatura ambiente, deste sistema são as apresentadas na tabela 5.1.

Tabela 5.1

K'_a	K_a	K_h	K_i	$k_h(s^{-1})$	$k_h(s^{-1}M^{-1})$	$k_i(s^{-1})$	$k_i(s^{-1})$
$10^{-2.7}$	$10^{-3.55}$	8.0×10^{-6}	5.0×10^2	0.48	3×10^4	0.57	8.3×10^{-4}

A análise das constantes apresentadas na tabela anterior permite verificar que a isomerização de Cc a Ct procede com uma velocidade ($k_i=0.57s^{-1}$) cerca de 3 ordens de grandeza superior à determinada para o flavílio não substituído ($k_i=4.1 \times 10^{-4}s^{-1}$), enquanto que a hidratação de AH^+ a B procede com uma velocidade ($k_h=0.48s^{-1}$) cerca de 1 ordem de grandeza inferior à determinada para o flavílio não substituído ($k_h=4.6s^{-1}$). De onde resulta que no 7-hidroxiavílio a formação de Ct já não é determinada pela velocidade da isomerização como no caso do flavílio.

5.2.1. Determinação da barreira da isomerização *cis-trans*

A fotólise por relâmpago de uma solução de 7-hidroxiavílio contendo chalcona *trans* a pH 4.8 mostra a presença de três processos consecutivos: i) na escala de tempo do relâmpago Ct desaparece para dar Cc e B, ii) em segundos Cc+B desaparecem revertendo uma fracção a Ct e outra fracção formando AH^+ e A, iii) em minutos a fracção de AH^+ e A formadas originam de novo Ct, sendo a total absorvância inicial desta espécie recuperada. O processo que se dá em segundos corresponde à ocorrência de dois processos paralelos e competitivos e é aquele que dá mais informação em termos de constantes cinéticas, uma vez que quando se segue a variação da absorvância quer a 460nm (AH^+) quer a 360nm (Ct) é observada uma mesma cinética de primeira ordem que se torna mais eficiente com a

diminuição do pH. *Pina e Maestri* demonstraram que a constante observada para cinéticas deste tipo é aproximadamente dada por:^[52]

$$k_{\text{obs}} = k_i + k_h[\text{H}^+] \quad (5.1)$$

que corresponde à soma das constantes dos dois processos competitivos pelos quais desaparece Cc: a isomerização que controla o regresso a Ct e a desidratação que determina a formação de AH⁺ e A.

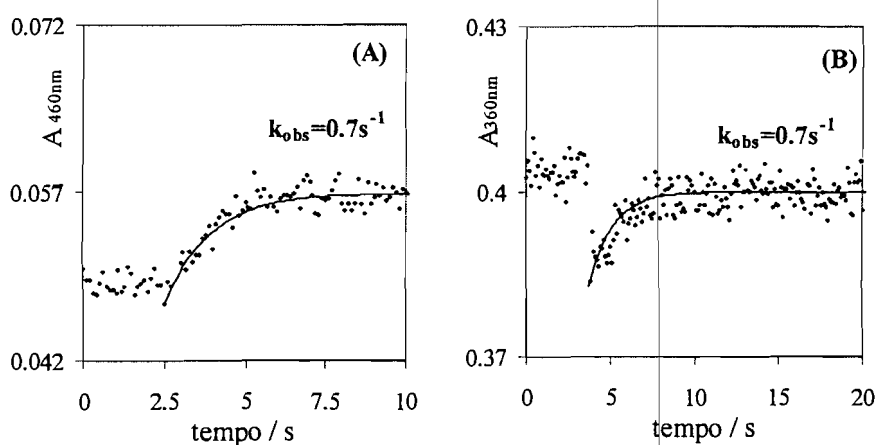


Figura 5.1- Fotólise por relâmpago de uma solução de 7-hidroxiavílio equilibrada em Ct a pH 4.84 e 30°C, seguida a: (A) 460nm, (B) 360nm.

Levando a cabo uma série de fotólises por relâmpago à mesma temperatura e a diferentes pH, a representação gráfica das constantes observadas a cada um dos pH em função da concentração de protão, origina uma recta cuja ordenada na origem corresponde a k_i e o declive a k_h , segundo a equação (5.1). Deste modo foi possível calcular k_i a diversas temperaturas, ver tabela 5.2.

Tabela 5.2.

T (°C)	pH	k _{obs} (s ⁻¹)	k _i (s ⁻¹)	Ea <i>cis</i> → <i>trans</i>
20	3.65	0.95	0.40	37.8 kJmol ⁻¹
	4.84	0.45		
	5.40	0.40		
30	3.65	1.7	0.61	
	4.84	0.7		
	5.40	0.6		
40	3.65	2.0	1.11	
	4.84	1.3		
	5.40	1.0		

Conhecendo k_i a diversas temperaturas, facilmente através de um gráfico de Arrhenius é calculada a energia de ativação da barreira da isomerização *cis-trans* da chalcona que neste caso é de 37.8 kJmol⁻¹.

É possível recorrendo às constantes publicadas para este composto e ao valor da barreira da isomerização agora determinado, construir um diagrama de energia incluindo as diversas espécies intervenientes nas transformações estruturais do 7-hidroxiilavílio, ver figura 5.2.

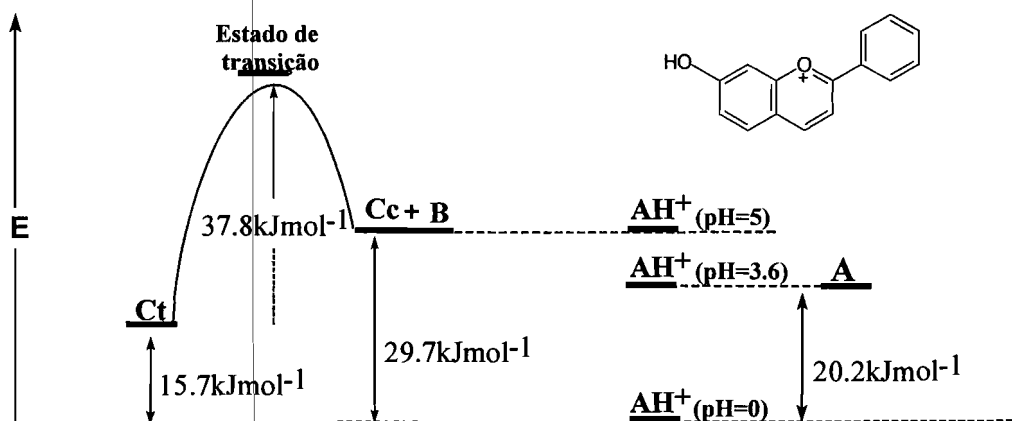
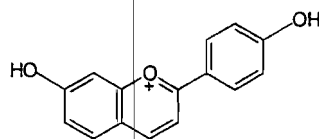


Figura 5.2 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 7-hidroxiilavílio.

5.3. Cloreto de 7,4'-dihidroxiavilíio



Há diversos estudos sobre o cloreto de 7,4'-dihidroxiavilíio ^[44,52,61] quer a nível das transformações estruturais que apresenta em solução aquosa quer relativos à sua fotoquímica. Estes estudos mostram que neste composto em meio fortemente ácido o catião avilíio ($\lambda_{\text{máx}}=456\text{nm}$, $\epsilon=42500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é a espécie termodinamicamente estável. O aumento do pH conduz à sua imediata transformação em base quinoidal, que seguidamente equilibra com a chalcona *trans* através do hemiacetal e da chalcona *cis*, à semelhança do que acontece com o 7-hidroxiavilíio. Cc assim que se forma isomeriza rapidamente a Ct, não existindo um pseudo-equilíbrio entre AH^+ e $\text{B}+\text{Cc}$. O equilíbrio final é constituído por 12% de A e 88% de Ct.

As constantes cinéticas e termodinâmicas, à temperatura ambiente, publicadas para este composto^[57] são as apresentadas na tabela 5.3.

Tabela 5.3

K'_{a}	K_{a}	K_{h}	K_{i}	$k_{\text{h}}(\text{s}^{-1})$	$k_{-\text{h}}(\text{s}^{-1}\text{M}^{-1})$	$k_{\text{i}}(\text{s}^{-1})$	$k_{-\text{i}}(\text{s}^{-1})$
$10^{-3.05}$	10^{-4}	1.4×10^{-6}	1.4×10^3	1.8×10^{-2}	1.3×10^4	0.26	1.8×10^{-4}

A análise das constantes apresentadas na tabela anterior mostra que a isomerização de Cc a Ct procede com uma velocidade ($k_{\text{i}}=0.26\text{s}^{-1}$) superior à da hidratação de AH^+ a B ($k_{\text{h}}=1.8 \times 10^{-2}\text{s}^{-1}$), sendo por isso a formação de Ct determinada pela velocidade da hidratação e não da isomerização.

5.3.1. Determinação da barreira da isomerização *cis-trans*

A fotólise por relâmpago de uma solução de 7,4'-dihidroxiavilíio contendo chalcona *trans* a pH 4.9 mostra após o relâmpago o desaparecimento de Cc (270nm) e o

concomitante aparecimento de AH^+ (450nm) e recuperação de Ct (370nm). Estes três processos ocorrem com a mesma cinética de primeira ordem que se torna mais eficiente com a diminuição do pH, cuja constante observada é dada por $k_{obs} = k_i + k_h[H^+]$ (5.1).

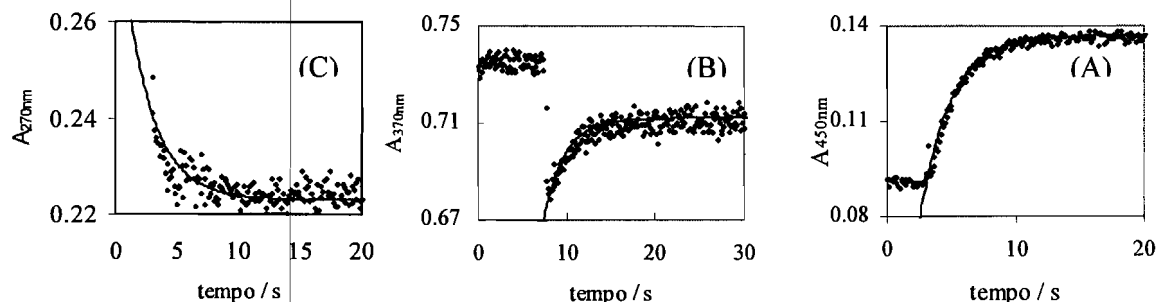


Figura 5.3- Fotólise por relâmpago de uma solução de 7,4'-dihidroxiavilíio equilibrada em Ct a pH 4.89 e 20°C, seguida a: (A) 450nm, (B) 370nm, (C) 270nm.

Levando a cabo uma série de fotólises por relâmpago a diferentes valores de pH e a uma dada temperatura, é possível através da equação (5.1) calcular k_i a essa temperatura. Conhecendo k_i a 20°C, 30°C e 40°C, através de um gráfico de Arrhenius calcula-se uma energia de activação da barreira da isomerização *cis-trans* da chalcona de 64.6 kJmol⁻¹, ver tabela 5.4.

Tabela 5.4.

T (°C)	pH	k _{obs} (s ⁻¹)	k _i (s ⁻¹)	Ea <i>cis</i> → <i>trans</i>
20	4.27	0.85	0.31	64.6 kJmol ⁻¹
	4.48	0.67		
	4.89	0.43		
30	4.27	1.50	0.65	
	4.48	1.20		
	4.89	0.85		
40	4.27	2.5	1.75	
	4.48	2.3		
	4.89	1.9		

É possível através das constantes publicadas para este composto e do valor da barreira da isomerização agora determinado, construir um diagrama de energia das espécies intervenientes nas transformações estruturais do 7,4'-dihidroxi-flavílio, figura 5.4.

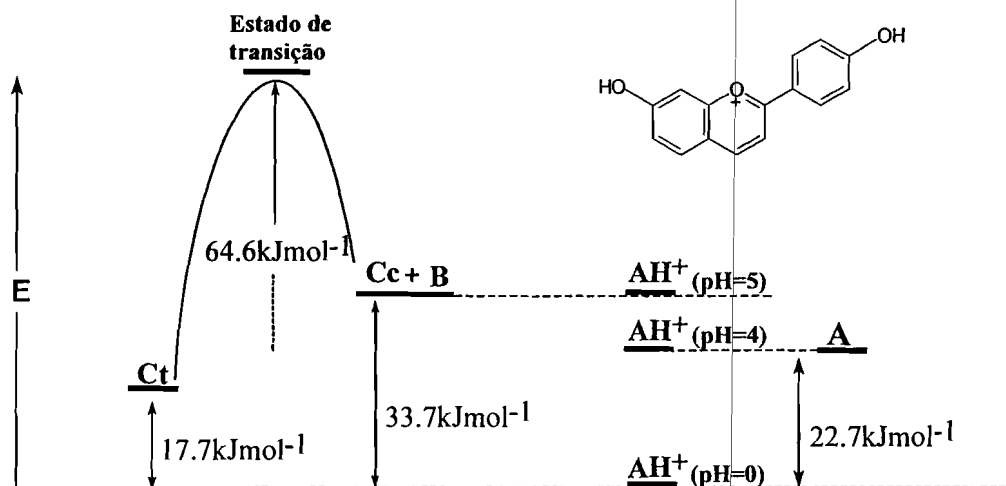
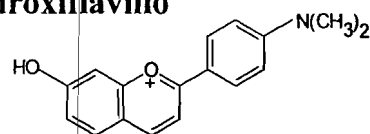


Figura 5.4 – Diagrama de energia das espécies envolvidas nas transformações do 7,4'-dihidroxi-flavílio.

5.4. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxi-flavílio



5.4.1. Soluções em meio ácido ou neutro

Quando uma solução de perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxi-flavílio a pH 1 contendo AH^+ ($\lambda_{max}=450nm$, $\epsilon=32000M^{-1}cm^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 5, verifica-se que a banda de absorção a 455nm do catião flavílio decresce, aparecendo uma nova banda a 380nm característica da chalcona *trans* e uma pequena banda a cerca de 500nm correspondente à base quinoidal. Ao fim de de 2 horas os espectros já não apresentam variações mostrando que foi atingido um equilíbrio entre AH^+ e $A+Ct$, ver figura 5.5. A representação da variação da absorvância a 455nm em função do pH (inserção na figura 5.5) permite determinar uma constante pK'_a de 2.8.

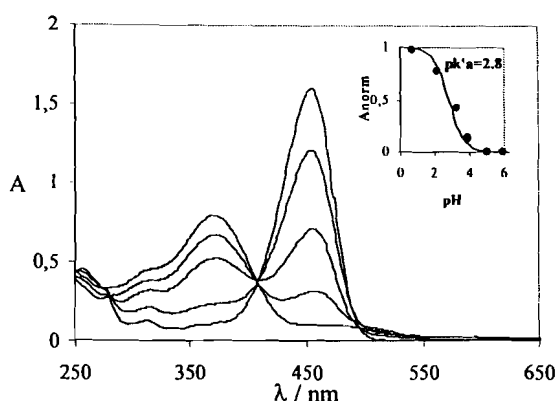


Figura 5.5 – Variação espectral 2 horas após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 5, para o 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Um salto para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 6, mostra que são recuperados imediatamente 5% de AH^+ , permanecendo 95% em Ct. A fim de 45 minutos são recuperados 100% de AH^+ a partir de Ct, via $\text{Ct} + \text{B}$, com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é de 0.058min^{-1} , ver figura 5.6. Este comportamento mostra que o aparecimento de AH^+ a partir de Ct é controlado pela isomerização *trans-cis* e não pela desidratação, sendo portanto k_i necessariamente inferior a $k_h[\text{H}^+]$. Mais uma vez é visível o efeito da substituição de um hidroxilo na posição 7, que conduz à existência de uma barreira à isomerização muito baixa, dado que em apenas 45 minutos se recuperam 100% de AH^+ a partir de Ct.

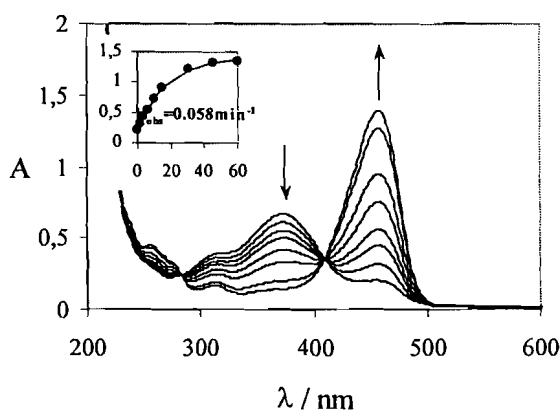


Figura 5.6- Variação espectral após um salto para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 6 ($4 \times 10^{-5} \text{M}$).

Como a quantidade de AH^+ formada imediatamente (5%) corresponde à fracção de A no equilíbrio e o restante (95%) a Ct, é possível calcular $K_a = \chi_A K'_a = 7.9 \times 10^{-5}$ e $K_i K_h K_t = \chi_{Ct} K'_a = 1.5 \times 10^{-3}$. Pode então ser calculada a distribuição das fracções molares representada na figura 5.7.

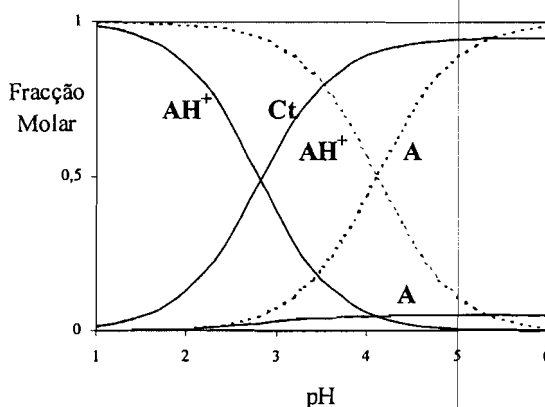


Figura 5.7 – Distribuição das fracções molares do 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio em meio ácido e neutro no (...) pseudo-equilíbrio estabelecido em milisegundos com A e no (—)equilíbrio final.

5.4.2. Soluções em meio básico

Uma série de saltos de pH 1 para a gama de pH entre 5 e 12 mostra que a partir de pH 6 a banda a 380nm correspondente à Ct decresce dando origem a uma nova banda a 485nm correspondente a Ct ionizada com um $pK_{ap}=8$, ver figura 5.8.

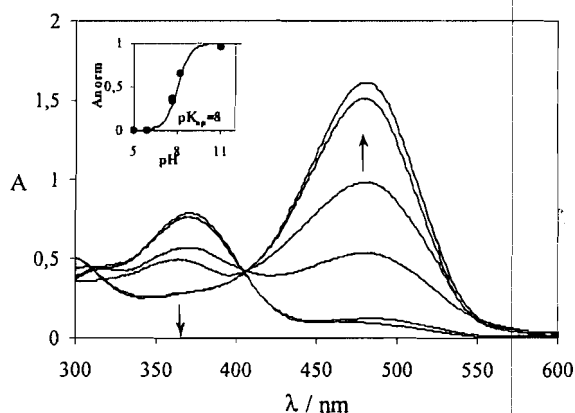
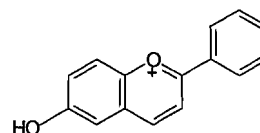


Figura 5.8- Variação espectral 2 horas após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 5 e 12, para o 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio ($5 \times 10^{-5} M$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de Ct^- em função do pH.

Um salto para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 12 mostra que imediatamente se obtém um espectro correspondente a 100% de Ct e ao longo de 45 minutos Ct desaparece originando AH^+ , num processo controlado pela isomerização, com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é 0.058min^{-1} . Daqui se conclui que no equilíbrio a pH 12 existe apenas Ct^- que quando é colocada a pH 1 imediatamente origina Ct que isomeriza a Cc acabando por conduzir a AH^+ , do mesmo modo que acontece após um salto de pH 6 para 1.

5.5. Cloreto de 6-hidroxiavílio



5.5.1. Soluções equilibradas

Quando uma solução de cloreto de 6-hidroxiavílio a pH 1 contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}}=385\text{nm}$, $\epsilon=20000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 5, verifica-se que a banda de absorção a 485nm do catião avílio decresce, aparecendo novas bandas a menores comprimentos de onda compatíveis com a formação de B+Cc. A proporção das espécies depende do pH final da solução, mantendo-se este pseudo-equilíbrio durante alguns minutos, ver figura 5.9. A representação da variação da absorvância a 385nm em função do pH (inserção na figura 5.9) permite calcular $pK^a=3.8$, onde $K^a=K_a+K_h+K_hK_t$.

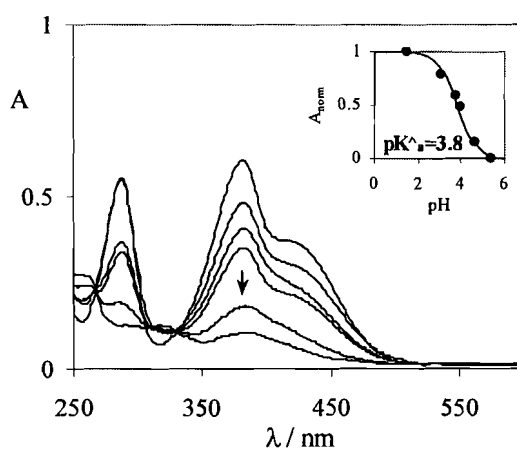


Figura 5.9 – Variação espectral 10 minutos após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 6, para o 6-hidroxiavílio ($3 \times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Ao longo do tempo o pseudo-equilíbrio evolui e ao fim de cerca de 6 horas estabelece-se um equilíbrio final entre AH^+ e Ct, ver figura 5.10. A representação da variação da absorvância a 385nm em função do pH (inserção na figura 5.10) permite determinar uma constante pK'_a de 3.0, onde $K'_a = K_a + K_h + K_h K_t + K_h K_t K_i$. Daqui é possível calcular $K'_a = K_h K_t K_i = 5.85 \times 10^{-4}$.

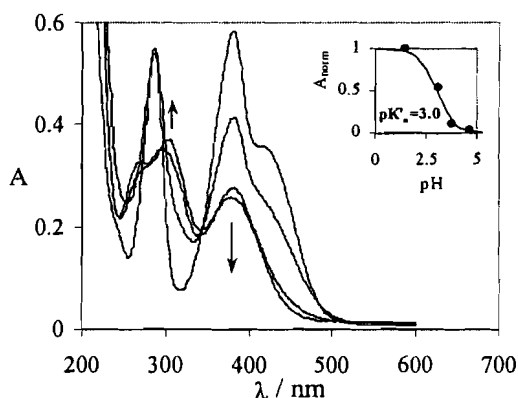


Figura 5.10 – Variação espectral 6 horas após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 6 para o 6-hidroxiflavílio ($3 \times 10^{-5} M$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Um salto para pH 1 de uma solução equilibrada 20 horas a pH 5.6 não mostra qualquer alteração imediata mantendo-se o espectro característico da chalcona *trans*. Este comportamento evidencia que no equilíbrio final não existe B + Cc e ainda que existe uma barreira à isomerização *cis-trans*. É possível agora fazer a representação da distribuição das fracções molares para este composto, ver figura 5.11.

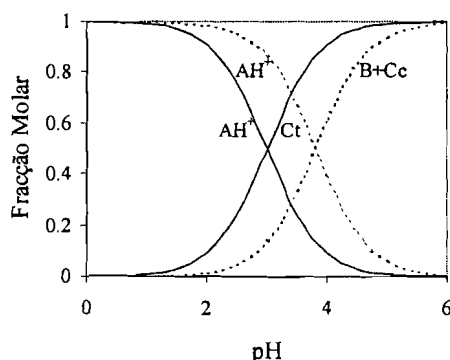


Figura 5.11 – Distribuição das fracções molares no (...) pseudo-equilíbrio e no (—) equilíbrio do 6-hidroxiflavílio.

5.5.2. Soluções não equilibradas

Um salto para pH 6 de uma solução contendo AH^+ a pH 1 mostra que inicialmente se forma B+Cc e posteriormente ao longo de cerca de 6 horas à temperatura ambiente estes evoluem para Ct. Este processo é controlado pela isomerização *cis-trans* da chalcona, indiciando a existência de uma considerável barreira cinética. Quando o salto de pH 1 para 6 é seguido a diversas temperaturas e para cada uma delas determinada a constante cinética observada para o aparecimento de Ct, é possível determinar a partir de um gráfico de Arrhenius que a energia de activação da isomerização é de 87 kJmol^{-1} , ver figura 5.12.

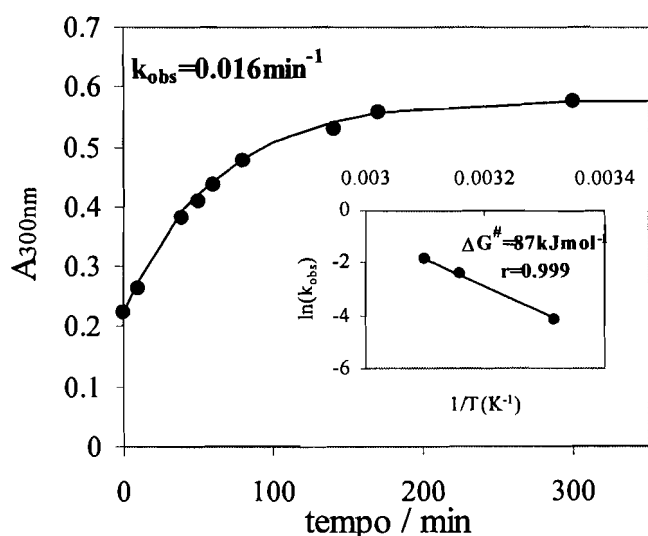
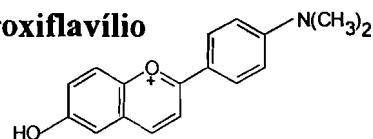


Figura 5.12- Variação da absorvância a 300nm após um salto de pH 1 para 6 a 28.5°C . Na inserção encontra-se o gráfico de Arrhenius de onde se retira um valor de 87 kJmol^{-1} para a barreira à isomerização.

Esta barreira à isomerização apresenta um valor muito próximo do determinado para o flavílio não substituído, mostrando que a substituição de um hidroxilo na posição 6, ao contrário do que acontece na posição 7, não conduz a uma diminuição da barreira de isomerização. Assim o comportamento do 6-hidroxiavilíio em solução aquosa é muito semelhante ao do flavílio, sendo a formação de Ct a partir de AH^+ determinada pela isomerização e não pela hidratação.

5.6. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio



5.6.1. Soluções equilibradas

Os espectros de absorção do tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio 1 hora após diversos saltos de pH 1 para a gama de pH entre 1 e 10 mostram que a banda correspondente ao catião avílio ($\lambda_{\text{máx}}=535\text{nm}$, $\epsilon=42500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) desaparece à medida que o pH aumenta dando origem a uma nova banda a 360nm (figura 5.13). A representação da absorvância a 535nm em função do pH (inserção na figura 5.13) permite calcular um pK_{ap1} de 7.8.

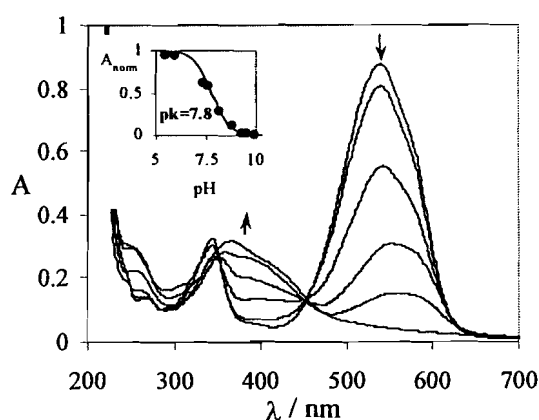


Figura 5.13 – Variação espectral 1 hora após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 10, para o 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio ($2 \times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção está a absorvância a 535nm em função do pH.

Um salto de pH de 1 para 7.6 mostra que o espectro obtido ao fim de cerca de 45 minutos, correspondente ao pseudo-equilíbrio apresentado na figura 5.13, evolui ao longo do tempo com pontos isobésticos para uma nova banda a 410nm que aumenta durante cerca de 5 horas, ver figura 5.14. Uma reacidificação desta solução leva ao aparecimento de um espectro compatível com a formação de Ct, pelo que a banda a 410nm é atribuída à Ct ionizada e consequentemente a banda a 360nm à Cc ionizada.

Seguido o desaparecimento da absorvância a 535nm após um salto para pH 7.6 é possível observar um decaimento biexponencial com $k_{1\text{obs}}=0.11\text{min}^{-1}$ e $k_{2\text{obs}}=0.01\text{min}^{-1}$, sendo o primeiro correspondente à formação de Cc^- e o segundo à isomerização de Cc^- a Ct^- .

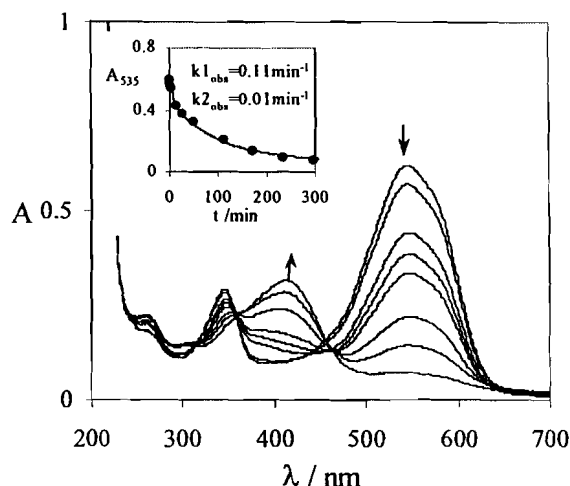


Figura 5.14– Variação espectral após um salto de pH 1 para 7.6. Na inserção está a absorvância a 535nm versus tempo.

Este comportamento é semelhante ao encontrado no 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio e explica-se se for tido em conta que a existência do grupo dimetilamino permite a existência de dois tautómeros para a espécie AH^+ , que o equilíbrio entre estes favorece o tautómero com a amina deficiente de electrões e que a hidratação se dá através do tautómero com o oxigénio deficiente de electrões. Só quando o pH é suficientemente alto para que a hidratação seja favorecida (provavelmente via ataque de um ião hidroxilo e não de uma água), o equilíbrio tautomérico se desloca no sentido do tautómero que pode hidratar, originando os produtos B e Cc que a este pH são transientes originando de imediato Cc ionizada.

Após 2 dias à temperatura ambiente os espectros de absorção do 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxi-flavílio entre pH 1 e 9 já não apresentam alterações, mostrando que foi atingido o equilíbrio final, estabelecido entre AH^+ , Cc^- e Ct^- com um $\text{pK}_{\text{ap}} = 6.5$.

A reacidificação de uma solução equilibrada a pH 8.8 durante 2 dias mostra que se recuperam de imediato 4.8% de AH^+ , correspondente à fracção de Cc^- no equilíbrio. Assim, a distribuição das fracções molares no pseudo-equilíbrio e no equilíbrio é a apresentada na figura 5.15.

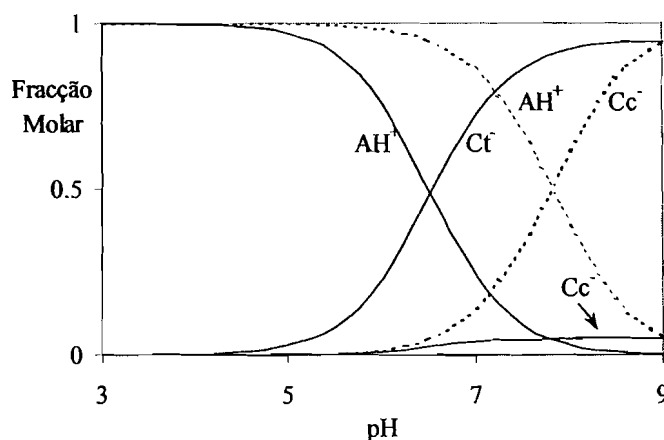


Figura 5.15 – Distribuição das fracções molares no (...) pseudo-equilíbrio e no (—) equilíbrio do 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio.

5.6.2. Soluções não equilibradas

Um salto de pH 1 para pH 9.07 conduz em cerca de 45 minutos, através de um processo monoexponencial ao aparecimento de Cc ionizada com (figura 5.16) que posteriormente ao longo de cerca de 5 horas à temperatura ambiente se converte em Ct ionizada. Este comportamento implica a existência de uma considerável barreira à isomerização *cis-trans* da chalcona ionizada, confirmando que a substituição de um hidroxilo na posição 6 não leva a um elevado decréscimo desta barreira ao contrário do que acontece na posição 7, apresentando o 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiavílio características semelhantes às do 4'-(N,N-dimetilamino)avílio.

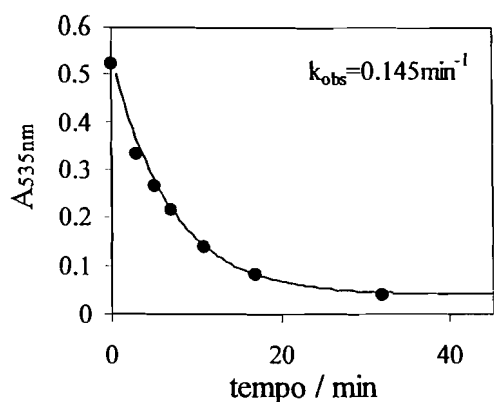


Figura 5.16 – Variação da absorvância a 535nm em função do tempo, após um salto de pH 1 para 9.07.

Se for estudado o primeiro processo onde AH^+ origina Cc^- , em diversos saltos de pH 1 para a gama da pH entre 7.6 e 9.4, verifica-se que este ocorre com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada varia com o pH, ver tabela 5.5.

Tabela 5.5

pH	7.60	8.10	8.72	8.80	8.98	9.07	9.25	9.36
$K_{obs} (min^{-1})$	0.012	0.030	0.072	0.10	0.115	0.145	0.17	0.23

A representação das constantes observadas para a formação de Cc^- a partir de AH^+ em função da concentração de ião hidroxilo, mostra que existe uma dependência linear em que a constante observada é mais elevada quanto mais elevada for a concentração de ião hidroxilo, ver figura 5.17.

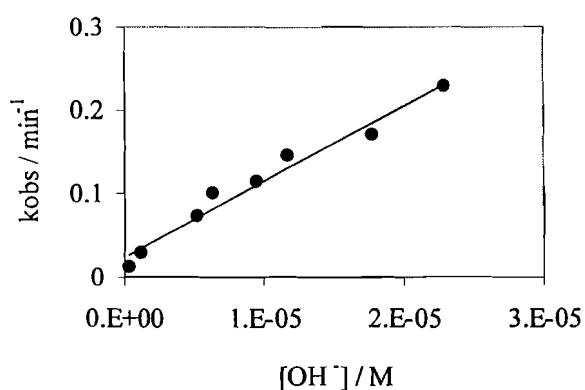
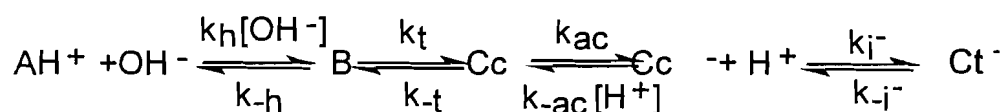


Figura 5.17 – Representação das constantes observadas para a formação de Cc^- a partir de AH^+ a diversos pH, em função da concentração de ião hidroxilo.

O processo que conduz de AH^+ a Cc^- engloba hidratação de AH^+ a B, tautomerização de B a Cc e desprotonação de Cc a Cc^- , mas tendo em consideração que a tautomerização é independente do pH e que a desprotonação é um processo muitíssimo rápido, a cinética observada deverá ser determinada pela hidratação. Por esse motivo a dependência linear da hidratação com a concentração de ião hidroxilo corrobora a ideia anteriormente exposta desta reacção só se tornar viável a um pH suficientemente elevado em que ocorra via ataque directo de ião hidroxilo, sendo a este pH Cc^- termodinamicamente mais estável que Cc que se torna uma espécie transiente, ver esquema 5.1.



Esquema 5.1

Tendo em conta que a constante observada para o desaparecimento de AH^+ corresponde à hidratação pode dizer-se que k_{obs} é aproximadamente dado por $k_h[OH^-] + k_{-h}$, podendo então ser retirados do declive e da ordenada na origem do gráfico apresentado na figura 5.17 respectivamente $k_h = 9.1 \times 10^4 \text{ min}^{-1} \text{ M}^{-1}$ e $k_{-h} = 2.4 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

5.7. Conclusão

Os sais de flavílio substituídos com um grupo hidroxilo na posição 6 ou 7 do anel A apresentam chalcona *trans* como forma maioritária ou única no equilíbrio, à semelhança do que acontece no flavílio não substituído ou substituído no anel B.

No caso da substituição na posição 6, o comportamento exibido é muito semelhante ao do flavílio, não existindo uma alteração visível da intensidade da barreira de isomerização *cis-trans* da chalcona. Assim, a isomerização *cis-trans* é o processo mais lento dos envolvidos nas transformações estruturais que levam de AH^+ a Ct,

estabelecendo-se inicialmente um pseudo-equilíbrio entre AH^+ e $B + Cc$ e posteriormente um equilíbrio entre AH^+ e maioritariamente Ct . Esta característica faz com que os compostos substituídos na posição 6 com um hidroxilo possam ser utilizados para efectuar ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* semelhantes aos estudados no capítulo anterior. No entanto não trazem nenhuma melhoria a estes ciclos dado não apresentarem diferenças significativas de comportamento em relação ao flavílio, nomeadamente no que respeita a incrementar a barreira de isomerização.

A substituição de um grupo hidroxilo na posição 7 apresenta diferenças drásticas em relação aos flavílios anteriormente estudados inclusivamente aos substituídos na posição 6. Apesar da chalcona *trans* ser a espécie maioritária no equilíbrio final, o processo mais lento que antecede a sua formação a partir de AH^+ não é a isomerização *cis-trans* e sim a hidratação. No caso do 7-hidroxiavílio a isomerização de Cc a Ct procede com uma velocidade cerca de 3 ordens de grandeza superior à do flavílio não substituído, enquanto que a hidratação de AH^+ a B procede com uma velocidade cerca de 1 ordem de grandeza inferior. Este facto leva a que já não seja estabelecido um primeiro pseudo-equilíbrio entre AH^+ e A , B e Cc , uma vez que assim que se forma Cc esta não se acumula sendo imediatamente transformada em Ct .

Nos flavílios substituídos com um hidroxilo na posição 7 a barreira de isomerização *cis-trans* torna-se negligenciável, retornando Ct a 100% de AH^+ ao fim de minutos a horas a pH 1. Este facto impossibilita o uso destes compostos em ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* uma vez que não é possível partir de Ct a pH 1 dado a este pH esta se converter espontaneamente em AH^+ e partindo de Ct a um pH fracamente ácido ou neutro quando se obtém Cc fotoquimicamente (*escrever*) esta reverte espontaneamente a Ct apagando a informação escrita, excepto se após a irradiação for efectuada uma acidificação em microsegundos. O facto de um hidroxilo substituído na

posição 7 ao contrário do que acontece na posição 6, conduzir a uma diminuição da barreira está ligado efeito doador de electrões deste grupo contribuir para a extensão da ressonância do anel A até ao grupo carbonilo no primeiro caso mas ficar confinado ao anel no segundo caso, como será discutido aprofundadamente no capítulo 6.

Capítulo 6. A barreira da isomerização *cis-trans* e os substituintes.

6.1.Introdução

Como já foi estudado nos capítulos anteriores, a posição em que o flavílio apresenta substituição é determinante para o seu comportamento em solução aquosa, nomeadamente no que diz respeito às espécies existentes em equilíbrio e também à intensidade da barreira da isomerização *cis-trans* da chalcona. Atendendo a que a existência de uma considerável barreira à isomerização *cis-trans* da chalcona é condição necessária para tornar possível levar a cabo ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* com sais de flavílio sintéticos, a substituição está directamente envolvida na capacidade destes compostos serem considerados potenciais dispositivos de memória a nível molecular.

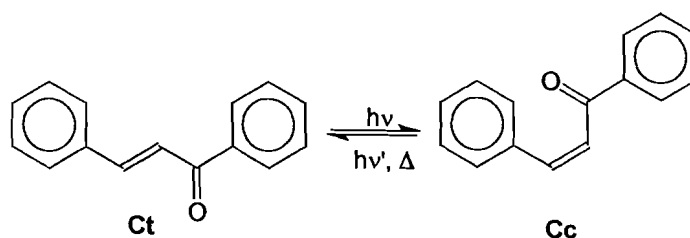
Por outro lado, também é possível retirar valiosa informação relativa ao efeito da substituição nas chalconas a partir dos seus espectros de ^1H RMN^[62]. A substituição de grupos doadores em diferentes posições da chalcona vai reflectir-se nos desvios químicos que os prótons dessa molécula apresentam em ^1H RMN, uma vez que o efeito de blindagem do substituinte afecta diferentes prótons consoante a posição que este ocupa na molécula^[63].

Assim, ao longo deste capítulo será analisado o efeito da substituição em diferentes posições da chalcona na respectiva barreira da isomerização, o efeito da mesma substituição da chalcona no seu espectro de ^1H RMN e finalmente feita uma correlação entre a intensidade desta barreira e os desvios químicos dos prótons da chalcona em ^1H RMN.

6.2. Barreira de isomerização *cis-trans*

6.2.1. Benzalacetofenona

A chalcona mais simples é a benzalacetofenona cuja falta de um substituinte hidroxilo na posição 9^Ψ a impede de ciclizar e consequentemente de apresentar as espécies características de um flavílio, ficando-se apenas pelas chalconas *cis* e *trans* (esquema 6.1).



Esquema 6.1

O isômero termodinamicamente mais estável da benzalacetofenona é o *trans*, cuja fotoreactividade em *iso*-octano e *n*-pentano é conhecida desde que em 1950 Lutz e Jordan mostraram que a irradiação da forma *trans* conduz a um equilíbrio entre este isômero e o *cis* e não a um processo de dimerização como se pensava anteriormente.^[64]

Levando a cabo uma irradiação a 313nm de uma solução contendo *trans*-benzalacetofenona em acetonitrilo observa-se um decréscimo da banda de absorção a 305nm (figura 6.1) até ser atingido um estado fotoestacionário ao fim de 5 minutos. Este estado foto-estacionário mantém-se à temperatura ambiente durante pelo menos 12 horas indiciando a existência de uma barreira de isomerização muito elevada.

^Ψ Ao contrário da numeração habitual das chalconas, é usada ao longo deste capítulo a numeração do flavílio aplicada à respectiva chalcona de modo a facilitar a identificação do composto em causa. Por este motivo, as usualmente chamadas 2-hidroxichalconas tornam-se 9-hidroxichalconas.

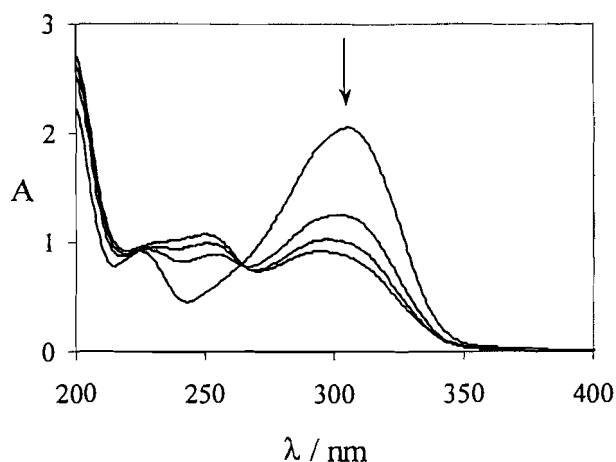


Figura 6.1- Irradiação a 313nm de uma solução de *trans*-benzalacetofenona ($7 \times 10^{-4} \text{M}$) em acetonitrilo. Tempo de irradiação: 0min, 1min, 2min, 5min.

Traçando espectros de ^1H RMN da *trans*-benzalacetofenona ($\pm 5 \times 10^{-1} \text{M}$) em acetonitrilo deuterado antes e durante a irradiação é possível determinar que existem 9%, 24% e 63% de Cc ao fim de respectivamente 2 horas, 7 horas e 32 horas de irradiação (figura 6.2). Deste modo, a comparação do espectro de U. V. –visível da solução contendo 63% de Cc e 37% de Ct em acetonitrilo deuterado, diluída em acetonitrilo, com o espectro de absorção do estado foto-estacionário permite calcular que neste último estado existem 83% de Cc e 17% de Ct.

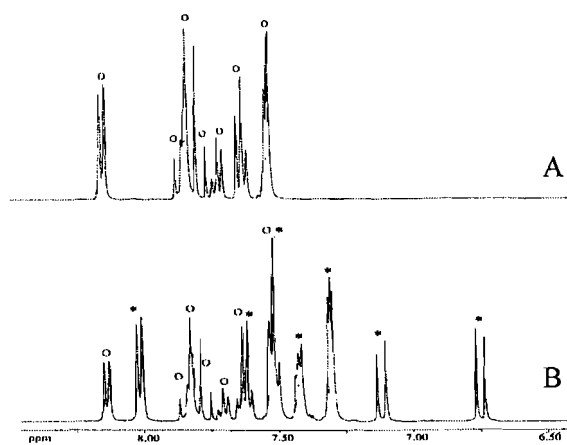


Figura 6.2- Espectros de ^1H RMN de uma solução contendo *trans*-benzalacetofenona em d_6 -acetonitrilo ($\pm 0.5 \text{M}$) após: (A) 0 horas, (B) 32 horas de irradiação a 313nm (o:Ct; *:Cc).

Com esta informação é possível obter matematicamente o espectro de U.V.-visível correspondente ao isómero *cis*, ver figura 6.3.

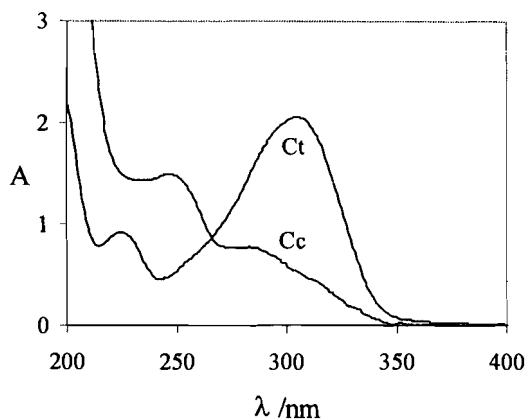


Figura 6.3- Espectros de absorção da *trans*-benzalacetofenona e da *cis*-benzalacetofenona (calculado) em acetonitrilo.

Quando é seguida a diversas temperaturas a recuperação de isómero *trans* a partir de uma mistura de isómeros *cis* e *trans* no estado foto-estacionário, é possível determinar através de um gráfico de Arrhenius uma energia de activação da barreira de isomerização *cis-trans* de 132 kJmol^{-1} para a benzalacetofenona (chalcona), ver figura 6.4.

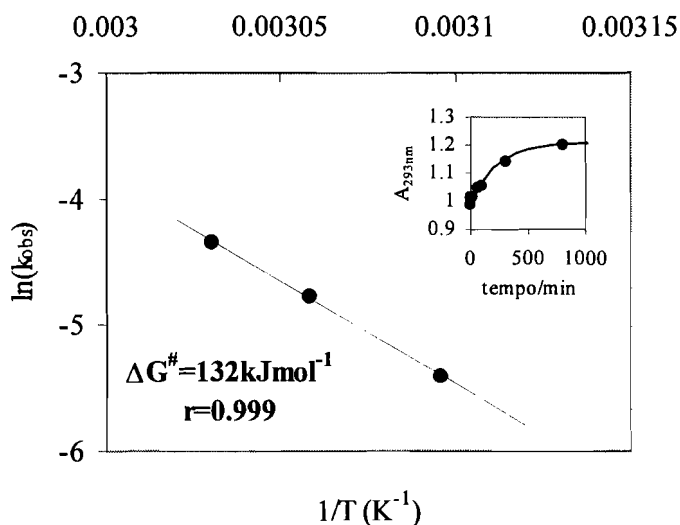
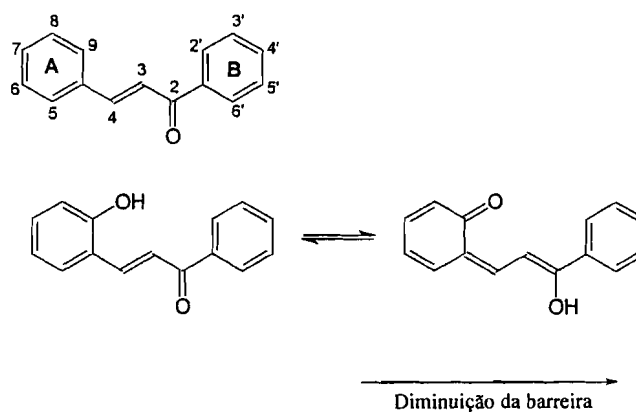


Figura 6.4- Gráfico de Arrhenius para a isomerização *cis-trans* da benzalacetofenona. Na inserção está a recuperação do isómero *trans* a partir do estado fotoestacionário a 50°C .

6.2.2. Efeito dos substituintes na barreira de isomerização *cis-trans*

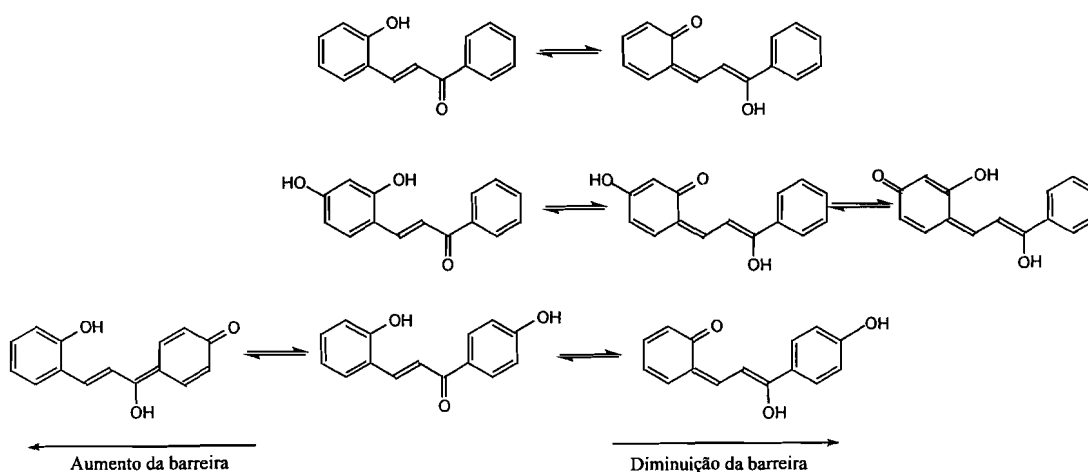
Para compreender o efeito dos substituintes na energia de activação da barreira de isomerização das 9-hidroxicalconas (tabela 6.1), pode seguir-se a evolução da respectiva barreira a partir da benzalacetofenona (chalcona) que apresenta uma barreira de isomerização com uma energia de activação de 132 kJmol^{-1} (em acetonitrilo). A introdução de um grupo hidroxilo na posição 9 (9-hidroxicalcona) para além de permitir uma ciclização da Cc que conduz a sistemas muito mais complexos como são os dos sais de flavílio, também afecta a barreira da isomerização *cis-trans*. O grupo hidroxilo na posição 9 possibilita a existência de um tautómero enol através de um equilíbrio ceto-enólico, cuja presença facilita a isomerização reflectindo-se num decréscimo da energia de activação da respectiva barreira para 89 kJmol^{-1} , ver esquema 6.2.



Esquema 6.2

Considerando a partir de agora a 9-hidroxicalcona -chalcona do flavílio não substituído- como composto padrão, a introdução de um hidroxilo na posição 7 permite a existência de mais uma forma quinoidal no anel A, aumentando a extensão do tautómero enol, esquema 6.3. Este aumento da extensão do tautómero enol reflecte-se na intensidade da barreira de isomerização que decresce para 38 kJmol^{-1} , correspondendo a um

decréscimo de 51 kJmol^{-1} em relação à 9-hidroxicalcona. Por outro lado, quando à 9-hidroxicalcona é introduzido um hidroxilo na posição 4' torna-se possível a existência de uma forma quinoidal no anel B, que não diminui o carácter de dupla ligação da ligação em torno da qual se dá a isomerização e portanto não deve diminuir a intensidade da barreira. Mais ainda, esta forma compete com o tautómero enol reduzindo a sua extensão no equilíbrio e conduzindo assim a um acréscimo de 40 kJmol^{-1} na barreira de isomerização que aumenta para 129 kJmol^{-1} , ver esquema 6.3.



Esquema 6.3

No entanto a substituição de um grupo hidroxilo quer na posição 3' quer na posição 6 não provoca uma alteração visível na mesma barreira que se mantém em 89 kJmol^{-1} e 87 kJmol^{-1} respectivamente. Este comportamento é facilmente explicado uma vez que nestas posições o hidroxilo pode entrar em ressonância com o anel aromático a que está ligado mas não contribui para estender a ressonância ao grupo carbonilo, não alterando o número de formas tautoméricas presentes.

Tabela 6.1

Composto	E _a isomerização <i>cis-trans</i>
4'-hidroxiflavílio	129 kJmol ⁻¹ a)
4'-metoxiflavílio	93 kJmol ⁻¹ a)
flavílio	89 kJmol ⁻¹ a)
3'-hidroxiflavílio	89 kJmol ⁻¹ a)
4'-metilflavílio	87 kJmol ⁻¹ a)
4'-(N,N-dimetilamino)flavílio	85 kJmol ⁻¹ a)
6-hidroxiflavílio	87 kJmol ⁻¹ b)
4',7-dihidroxiflavílio	65 kJmol ⁻¹ b)
7-hidroxiflavílio	38 kJmol ⁻¹ b)
7,8-dihidroxiflavílio	37 kJmol ⁻¹ c)

a)Determinada no capítulo 4; b)Determinada no capítulo 5; c)Determinada no capítulo 8

Como regra geral em relação à 9-hidroxichalcona, pode ser assumido que: i) *substituintes hidroxilo nas posições 5 e 7* contribuem para o aumento da extensão do tautómero enólico e consequentemente *diminuem a energia de activação da barreira de isomerização*, ii) *substituintes hidroxilo nas posições 2', 4' e 6'* contribuem para a diminuição da extensão do tautómero enólico que facilita a isomerização e consequentemente *aumentam a energia de activação da barreira de isomerização*, iii) *substituintes hidroxilo nas posições 6, 8, 3' e 5'* não alteram a extensão do tautómero enólico e consequentemente *mantêm a energia de activação da barreira de isomerização*.

6.3. ¹H RMN de chalconas

O espectro de ¹H RMN da *trans*-benzalacetofenona (*trans*-chalcona) em *d*-acetonitrilo só permite uma total atribuição das ressonâncias detectadas após serem feitos espectros COSY e NOESY, ver figura 6.5.

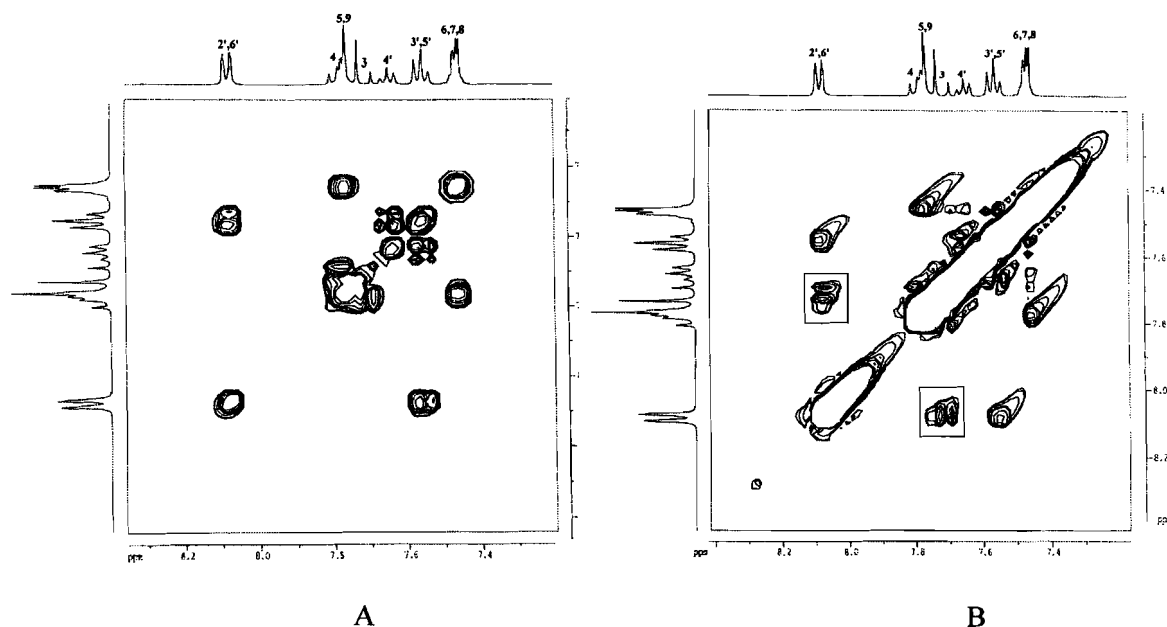


Figura 6.5-Espectro COSY (A) e NOESY (B) da *trans*-benzalacetofenona em acetonitrilo deuterado.

O sinal devido aos prótons 2'6' a 8.08ppm é facilmente identificado pela sua intensidade e multiplicidade. Através das conectividades apresentadas por estes prótons no espectro COSY, é possível atribuir ao sinal a 7.63ppm o próton 4' e ao sinal a 7.55ppm os prótons 3',5'. No espectro COSY também é possível detectar uma conectividade entre os sinais correspondentes aos prótons 5+9 a 7.77ppm e aos prótons 6+7+8 a cerca de 7.46ppm. Para além destas existe ainda uma conectividade entre os sinais a cerca de 7.71ppm e 7.79ppm presumivelmente correspondentes aos prótons 3 e 4 respectivamente, que se encontram parcialmente sobrepostos com o sinal correspondente aos prótons 5+9. esta última atribuição é confirmada no espectro NOESY que apresenta uma clara conectividade entre o sinal do próton 3 a cerca de 7.71ppm e o sinal a 8.08ppm correspondente aos prótons 2'6'. A conectividade visível por NOESY entre estes prótons já se encontra descrita na literatura para *trans*-chalconas de flavílios.^[47]

No caso da *trans*-9-hidroxichalcona, da *trans*-9,4'-dihidroxichalcona e da *trans*-7,9-dihidroxichalcona os espectros de ^1H RMN em D_2O encontram-se representados na figura 6.6, sendo a atribuição dos sinais encontrados para estas três chalconas imediata.

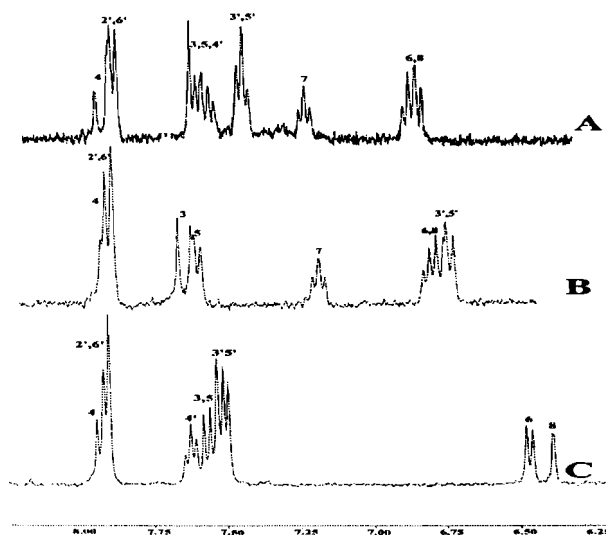


Figura 6.5- Espectro de ^1H NMR (400 MHz) em D_2O de (A) *trans*-9-hidroxichalcona, (B) *trans*-9,4'-dihidroxichalcona e (C) *trans*-7,9-dihidroxichalcona.

A comparação dos desvios químicos dos prótons destas três chalconas com os desvios químicos dos prótons da *trans*-benzalacetofenona, mostra que em todas elas os prótons 6 e 8 estão desviados para campo alto devido à blindagem provocada pela substituição do hidroxilo na posição 9, evidenciando um efeito *orto-para* director. No caso da 7,9-dihidroxichalcona o desvio para campo alto dos prótons 6 e 8 é mais intenso devido à substituição adicional de um hidroxilo na posição 7. No caso da 9,4'-dihidroxichalcona é detectado para além do desvio dos prótons 6 e 8, também um desvio para campo alto dos prótons 3',5' devido à blindagem provocada pelo hidroxilo na posição 4'.

Do mesmo modo, como seria de esperar, os espectros de ^1H RMN de diversas outras chalconas reflectem o efeito de blindagem dos seus substituintes doadores nos desvios químicos apresentados pelos seus prótons, ver tabela 6.2.

Tabela 6.2

composto	H ₂	H ₆	H ₅	H ₇	H ₄	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇	H ₈
9-hidroxicalcona	7.95	7.95	7.51	7.51	~7.62	~7.65	7.98	~7.65	6.96	7.31	6.92
7,9-dihidroxicalcona	7.93	7.93	7.51	7.51	7.62	~7.65	7.94	~7.55	6.49	-	6.40
7,8,9-trihidroxicalcona	7.83	7.83	7.43	7.43	~7.55	~7.55	~7.96	7.1	6.42	-	-
7,9,4'-trihidroxicalcona	7.99	7.99	7.02	7.02	-	7.61	7.94	7.62	6.54	-	6.45
4'-(dimetilamino)-9-hidroxicalcona	7.95	7.95	7.54	7.54	-	7.81	7.95	7.52	6.78	7.14	6.76
6,9-dihidroxicalcona	7.96	7.96	7.53	7.53	7.65	7.61	7.93	7.15	-	~6.84	~6.84
4'-metil-9-hidroxicalcona	7.89	7.89	7.36	7.36	-	7.71	~7.96	7.69	~6.98	~7.29	6.93
4'-metoxi-9-hidroxicalcona	8.01	8.01	7.07	7.07	-	7.72	7.97	7.68	6.97	7.30	6.92
9,3'-dihidroxicalcona	7.35	7.48	-	7.27	7.07	7.58	7.94	7.64	6.93	7.37	6.89
9,4'-dihidroxicalcona	7.97	7.97	6.92	6.92	-	7.74	7.98	7.70	6.97	7.32	6.94

6.4. Correlação entre a barreira e os desvios químicos em ¹H RMN

Uma maneira de obter uma medida quantitativa do efeito dos substituintes na barreira de activação da isomerização *cis-trans* da chalcona, que assumimos depender da extensão do tautómero enol em equilíbrio, é analisar os desvios químicos dos seus protões. Por um lado, a substituição de um grupo hidroxilo nas posições 5,7, (9) do anel A conduz a um decréscimo da barreira, por outro, dão origem a uma maior blindagem dos protões 6 e 8 (posições *orto* e *para*). Este comportamento sugere que a variação do desvio químico dos protões 6 e 8 possa ser utilizado para avaliar o decréscimo da intensidade da barreira de isomerização. O mesmo tipo de raciocínio pode aplicar-se ao anel B. Neste caso a substituição de um hidroxilo nas posições 2', 4' e 6' afecta o desvio químico dos protões nas posições 3' e 5', que podem ser utilizados para estimar a aumento da intensidade da barreira.

Quando comparamos os desvios químicos dos protões das *trans*-9-hidroxicalcona, *trans*-7,9-dihidroxicalcona e *trans*-9,4'-dihidroxicalcona na tabela 6.2, verifica-se que a introdução de um hidroxilo na posição 7 desvia os sinais dos protões 6 e 8 cerca de 0.49ppm para campo alto, permanecendo os outros aproximadamente invariáveis. Quando é introduzido um hidroxilo na posição 4', os protões 3',5' mostram um desvio de 0.59ppm

para campo alto, permanecendo os restantes aproximadamente invariáveis. É interessante notar que no caso da *trans*-7,9,4'-trihidroxichalcona é detectado um desvio de 0.45ppm para campo alto dos prótons 6 e 8 e um desvio de 0.5ppm para campo alto dos prótons 3',5', mostrando que os efeitos resultantes das substituições em 7 e 4' aparentemente não estão correlacionados.

De modo a avaliar a independência do efeito da substituição nos anéis A e B nos desvios químicos dos prótons 3',5' e 6,8 podem ser analisadas duas séries de pares de chalconas substituídas: uma série onde em cada par é mantida invariável a substituição no anel A e varia a substituição no anel B (posições 3' e 4') e outra série onde em cada par é mantida invariável a substituição no anel B e varia a substituição no anel A (posições 6,7 e 8). A representação gráfica dos desvios químicos dos prótons 3',5' e 6,8 em função da diferença experimental detectada na barreira para os vários pares de chalconas encontra-se na figura 6.6.

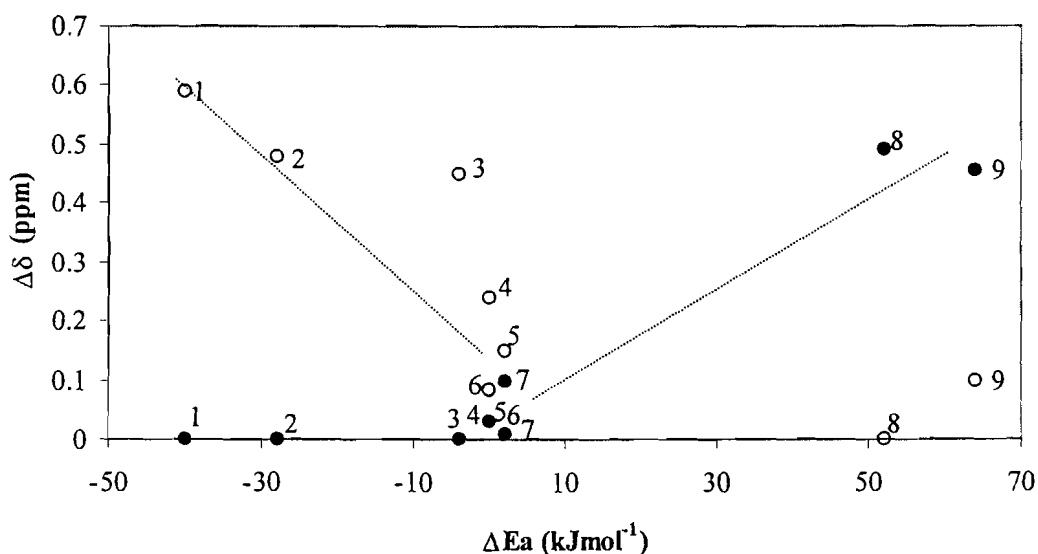


Figura 6.6- Correlação entre a variação dos desvios químicos dos prótons 3',5' (o) e 6,8 (●) em função da diferença dos valores experimentais das barreiras para os seguintes pares de *trans*-9-hidroxichalconas substituídas: 1: não substituída/4'-hidroxi; 2: 7-hidroxi/7,4'-dihidroxi; 3: não substituída/4'-metoxi; 4: não substituída/3'-hidroxi; 5: não substituída/4'-metil; 6: 7-hidroxi/7,8-dihidroxi; 7: não substituída/6-hidroxi; 8: não substituída/7-hidroxi; 9: 4'-hidroxi/4',7-dihidroxi.

Na figura 6.6 é possível ver que substituintes doadores em diferentes posições do anel A (pares 6 a 9) quase não afectam o desvio químico dos prótons 3',5', mas afectam os prótons 6 e 8 de forma correlacionada ao seu efeito na barreira. Analogamente, diferentes substituintes doadores em diferentes posições do anel B (pares 1 a 5) quase não afectam o desvio químico dos prótons 6 e 8, mas afectam os prótons 3',5' proporcionalmente ao efeito na barreira. É interessante notar que apesar das regras i) e ii) apenas terem sido enunciadas tendo em conta substituição nas posições 5, 7 e 2', 4', 6' dos anéis A e B respectivamente, compostos substituídos nas posições 6, 8 ou 3' aparentemente seguem a correlação.

Em conclusão, parece razoável assumir que mesmo quando estão presentes mais que um substituinte doador, o decréscimo da barreira pode ser avaliado pelo desvio químico dos prótons 6,8 e o acréscimo pelo desvio químico dos prótons 3',5'. Mais ainda, se ambos os efeitos são independentes (ou pouco dependentes) a energia da barreira de activação para 9-hidroxicalconas substituídas no anel A e/ou B pode ser prevista através de uma combinação linear da variação dos desvios químicos em ^1H RMN dos prótons 6,8 e 3',5'. Para correlacionar quantitativamente os valores da energia de activação da barreira de isomerização com os desvios químicos dos prótons 3',5' e 6,8, pode ser estabelecida a seguinte equação geral:

$$E_a = 89 + c_1\Delta\delta(3',5') - c_2\Delta\delta(6,8) \quad \text{kJmol}^{-1} \quad (6.1)$$

Onde E_a é a energia de activação da isomerização *cis-trans* de uma família de 9-hidroxicalconas substituídas no anel A e/ou B, 89 kJmol^{-1} a energia de activação da isomerização *cis-trans* da 9-hidroxicalcona não substituída, $\Delta\delta$ a diferença entre os desvios químicos médios dos prótons 3',5' ou 6,8 da 9-hidroxicalcona não substituída e da 9-hidroxicalcona substituída em causa, e c_1 e c_2 constantes de calibração determinadas

do seguinte modo: i) a diferença entre os desvios químicos dos prótons 3',5' na 9-hidroxicalcona não substituída e na 9,4'-dihidroxicalcona é de 0.59ppm, correspondendo a um aumento de 40 kJmol^{-1} na energia de activação, permitindo calcular $c_1=40/0.59=67.80 \text{ kJmol}^{-1}\text{ppm}^{-1}$, ii) a diferença entre os desvios químicos dos prótons 6,8 na 9-hidroxicalcona não substituída e na 7,9-dihidroxicalcona é de 0.49ppm, correspondendo a uma diminuição de 52 kJmol^{-1} na energia de activação, de onde se obtém $c_2=52/0.49=106.12 \text{ kJmol}^{-1}\text{ppm}^{-1}$.

A aplicação da equação 6.1 a diversas 9-hidroxicalconas substituídas encontra-se representada graficamente na figura 6.7 que mostra a energia de activação da barreira prevista por esta equação em função da energia de activação da barreira determinada experimentalmente.

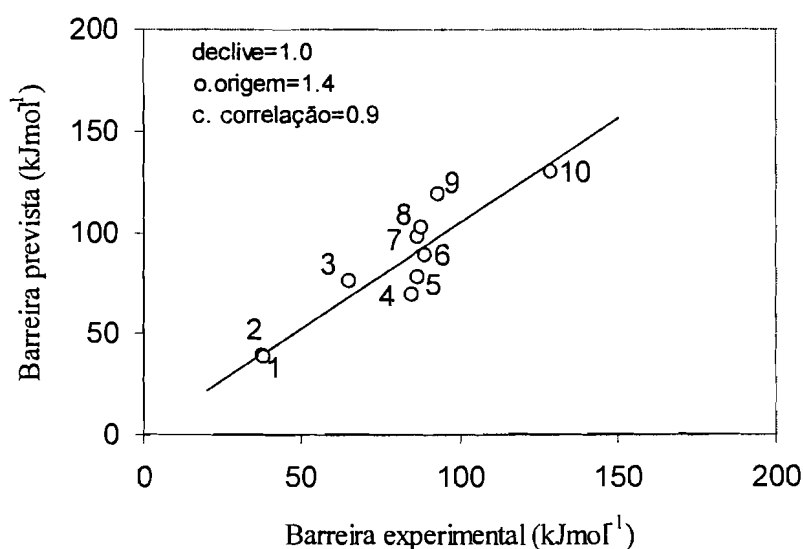


Figura 6.7- Representação da barreira de isomerização prevista pela equação 6.1 em função da barreira determinada experimentalmente. (1) 7,9-dihidroxicalcona, (2) 7,8,9-trihidroxicalcona, (3) 7,9,4'-trihidroxicalcona, (4) 4'-(dimetilamino)-9-hidroxicalcona, (5) 6,9-dihidroxicalcona, (6) 9-hidroxicalcona, (7) 4'-metil-9-hidroxicalcona, (8) 9,3'-dihidroxicalcona, (9) 4'-metoxi-9-hidroxicalcona, (10) 9,4'-dihidroxicalcona.

Na figura 6.7 é visível uma razoável correlação entre os valores previstos e os valores experimentais, o que mostra que este modelo simples baseado nos desvios químicos dos prótons 6,8 e 3',5' pode de um modo aceitável ser aplicado para prever a barreira de activação de uma família de 9-hidroxicalconas substituídas não necessariamente com grupos hidroxilo ou nas posições 4' ou 7. Assim pode considerar-se que o ^1H RMN é uma técnica que pode ser usada para fazer uma primeira triagem à possível utilização de novos sais de flavílio sintetizados em ciclos *de escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, na medida em que permite fazer uma aproximação à intensidade da barreira de isomerização apresentada pelo composto em questão.

Capítulo 7. Sais de flavílio e micelas em solução aquosa.

7.1.Introdução

Moléculas tensioactivas* contendo uma cabeça polar (hidrofílica) e uma cauda apolar (hidrofóbica) quando são colocadas em solução aquosa têm tendência a formar camadas alinhando-se lado a lado na superfície da água.^[65,66] Quando se encontram em elevada concentração (superior à concentração micelar crítica), estas moléculas tendem a formar micelas, ou seja, agregados mais ou menos esféricos com as caudas hidrofóbicas dirigidas para o interior e as cabeças hidrofílicas dirigidas para o exterior em contacto com a água, que se dispersam ao longo de todo o solvente.^[65,66]

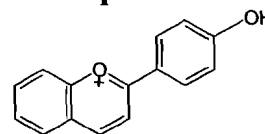
Ao longo das últimas décadas foram realizados muitos estudos relativos às propriedades físico-químicas de agregados de tensioactivos, especialmente micelas e vesículas.^[67] Este interesse no estudo de micelas prende-se entre outros com o facto destas serem facilmente preparadas e actuarem como um meio reaccional singular, uma vez que a solubilização de reagentes em micelas conduz frequentemente a alterações das velocidades de reacção, vias reaccionais e até da estereoquímica obtida.^[67] De facto, existem vários trabalhos publicados em que são estudadas moléculas orgânicas em meios micelares e quando os resultados são comparados com os obtidos em solução aquosa encontram-se alterações que vão desde a variação das constantes observadas para a protonação^[68] a desvios nos espectros de emissão de fluorescência^[69]. Em alguns casos, a alteração provocada pelo meio micelar nas propriedades de determinadas moléculas orgânicas,^[70] nomeadamente de sais de flavílio,^[71] permite que estas possam ser utilizadas como sondas para caracterizar as micelas em causa.

* É vulgar encontrar na literatura o termo *surfactante* proveniente do termo inglês «surface-active agent» em substituição do termo português *tensioactivo*.

Compostos fotocrómicos são moléculas que tipicamente apresentam duas formas estáveis que se podem interconverter por acção de luz. Do ponto de vista da Lógica^[53,54] estes sistemas simples podem efectuar funções lógicas do tipo SIM / NÃO. Por outro lado, sistemas capazes de existir em mais que duas formas interconvertíveis por mais de um estímulo externo podem comportar-se como dispositivos lógicos muito mais complexos, levando a cabo funções lógicas do tipo E,^[54] OU,^[54] negação do OU,^[72] OU exclusivo^[73,74] e ainda negação do OU exclusivo.^[75] Como já foi visto, os sais de flavílio sintéticos são sistemas capazes de existir em mais que duas formas interconvertíveis por acção de luz ou pH, podendo por isso ser utilizados como dispositivos de memória a nível molecular através de ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. Para além disso, as transformações estruturais que os flavílios em solução aquosa sofrem por acção de luz e/ou pH também podem ser tomadas como base para operações lógicas e levar à criação de intrincadas redes de processos químicos. Nestes sistemas, a presença de micelas pode ser considerada um terceiro estímulo para além da luz e do pH quer nos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* quer nas operações lógicas que podem ser efectuadas com estes compostos.^[76]

Ao longo deste capítulo é estudado o efeito de micelas carregadas positivamente, negativamente ou neutras nas transformações apresentadas por sais de flavílio em solução aquosa. É também discutido de que modo a adição de micelas pode ser considerado um terceiro estímulo, para além da luz e do pH, nos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* e nas operações lógicas que podem ser realizadas pelos flavílios.

7.2. Efeito de micelas nas transformações estruturais do perclorato de 4'-hidroxiflavílio.^[76]



7.2.1. Solução aquosa

Como já foi estudado no capítulo 4, quando uma solução de perclorato de 4'-hidroxiflavílio contendo AH^+ a pH 1 é colocada a um pH fracamente ácido ou neutro, são estabelecidos em escalas de tempo bastante diferentes dois pseudo-equilíbrios ((7.1) e (7.2)) e um equilíbrio termodinâmico (7.3) :



Aos equilíbrios (7.2) e (7.3) corresponde a seguinte distribuição das fracções molares:

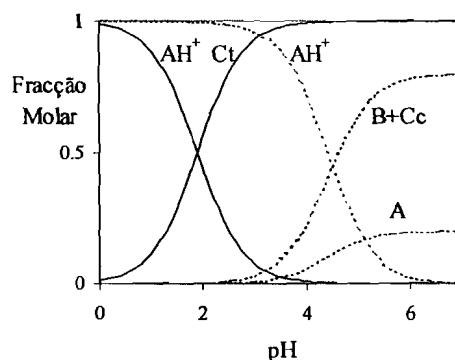


Figura 7.1-Distribuição das fracções molares no: (—) pseudo-equilíbrio ; (---) equilíbrio termodinâmico .

É possível com este composto realizar ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*:

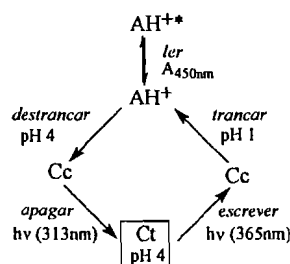


Figura 7.2 – Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo da espécie Ct do 4'-hidroxiflavílio.

7.2.2. Solução contendo micelas

7.2.2.1. Distribuição das fracções molares

Em solução aquosa, o brometo de cetiltrimetilamónio (CTAB), o polioxietileno(10)isooctilfeniléter (Triton X-100) e o dodecilsulfato de sódio (SDS) formam micelas quando atingem uma concentração superior à sua concentração micelar crítica (c.m.c.(SDS, H₂O)=10⁻²M; c.m.c.(CTAB, H₂O)=1x10⁻³M; c.m.c.(Triton X-100, H₂O)=2.5x10⁻⁴M).^[77]

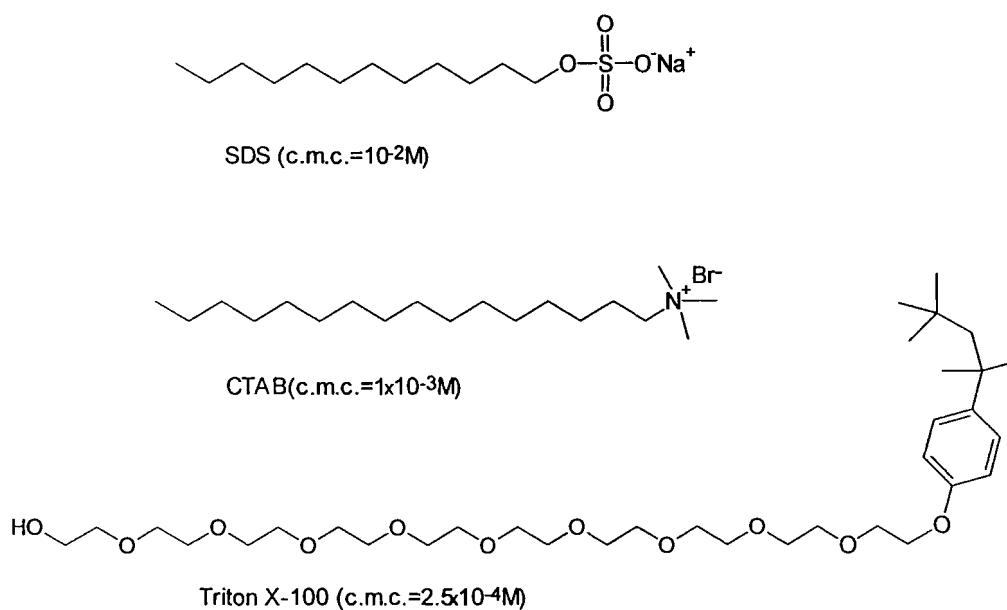


Figura 7.3 – Tensioactivos SDS, CTAB, triton X-100.

Quando uma solução aquosa contendo 4'-hidroxiflavílio (4x10⁻⁵M) e SDS (5x10⁻²M) a pH 1 é colocada na zona de pH entre 1 e 9, verifica-se de imediato um decréscimo da banda de absorção a 445nm correspondente ao AH⁺ e o aparecimento da banda correspondente à base quinoidal a 500nm. A banda correspondente à base quinoidal posteriormente decresce originando bandas a menores comprimentos de onda correspondentes ao hemiacetal e à chalcona *cis*, pelo que ao fim de 30 minutos é atingido

um pseudo-equilíbrio constituído por A, B e Cc tal como acontece na ausência de micelas (figura 7.4).

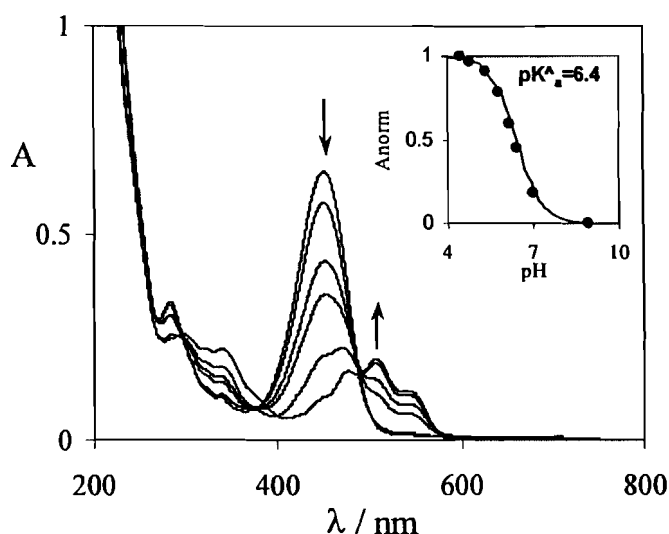


Figura 7.4- Espectros de absorção do 4'-hidroxiflavílio (4×10^{-5} M) numa solução aquosa contendo SDS (5×10^{-2} M) 30 minutos após diversos saltos de pH de 1 para pH final entre 1 e 9. Na inserção está a fracção de AH^+ em função do pH.

A análise da figura 7.4 mostra que o pseudo-equilíbrio se estabelece com um pK^*_a de 6.4 e que apresenta cerca de 52% de base quinoidal, diversamente do que se passa na ausência de micelas onde o pseudo-equilíbrio se estabelece com um pK^*_a de 4.4 e apresenta apenas 20% de base quinoidal. Esta mistura de pseudo-equilíbrio evolui, numa escala de tempo muito maior, para um equilíbrio termodinâmico que contém Ct e A, ao contrário do que acontece na ausência de micelas onde o equilíbrio final só apresenta Ct.

Tal como o SDS, também o CTAB e o Triton X-100 afectam os equilíbrios do 4'-hidroxiflavílio embora de modos diferentes. Os valores dos pK para o pseudo-equilíbrio (7.2) e para o equilíbrio termodinâmico (7.3) na ausência e na presença de micelas são apresentados na tabela 7.1.

Tabela 7.1

	CTAB	Triton X-100	Água	SDS
pK^{\wedge}_a	2.2	2.8	4.4	6.4
pK'_a	1.3	2.0	1.9 [§]	3.9

§ Determinado a 60°C.

Tendo em conta que os equilíbrios em causa se estabelecem sempre entre o catião flavílio carregado positivamente e diversas espécies neutras, a análise dos pK apresentados na tabela 7.1 mostra que: i) micelas carregadas negativamente (SDS) estabilizam o AH^+ relativamente às restantes espécies, conduzindo a um aumento do pK, ii) micelas carregadas positivamente (CTAB) destabilizam o AH^+ , conduzindo a uma diminuição do pK e iii) micelas neutras (Triton X-100) comportam-se, de um modo não tão acentuado, como as micelas carregadas positivamente destabilizando o AH^+ e conduzindo a um aumento do pK.

Os efeitos observados na presença de micelas são consistentes com resultados publicados para sistemas semelhantes, como é o caso dos estudos que Fernández e Fromherz realizaram com a fluorescência de aminocumarinas e hidroxycumarinas localizadas na superfície de micelas.^[68] Estes autores observaram que a intensidade e a direcção do desvio dos pK_a estavam relacionadas com a carga da micela: micelas carregadas positiva e negativamente originavam respectivamente desvios negativos e positivos nos pK_a . Observaram ainda que micelas neutras apresentavam desvios negativos nos pK_a , que atribuíram à redução da polaridade na superfície da micela. Em termos de intensidade, os desvios de pK_a encontrados por estes autores para as cumarinas são muito similares aos encontrados para o 4'-hidroxiflavílio, o que sugere que o flavílio também se encontre à superfície da micela.

Para além de desviar os pK, a presença de micelas também conduz à alteração da distribuição de fracções molares nos equilíbrios, como é possível ver nas figuras 7.5 e 7.6.

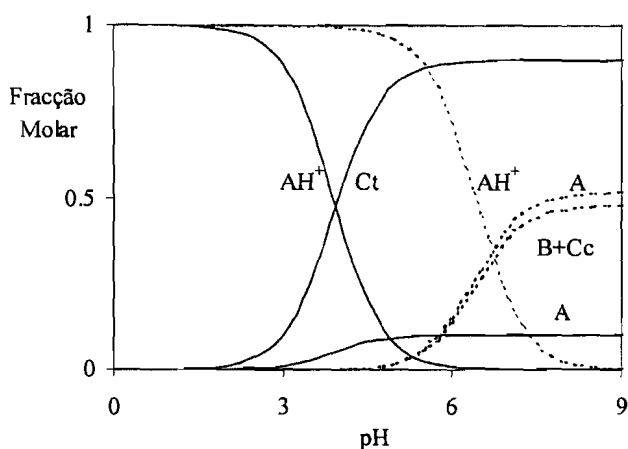


Figura 7.5- Distribuição das fracções molares do 4'-hidroxiflavílio na presença de SDS ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) no: (---) pseudo-equilíbrio; (—) equilíbrio.

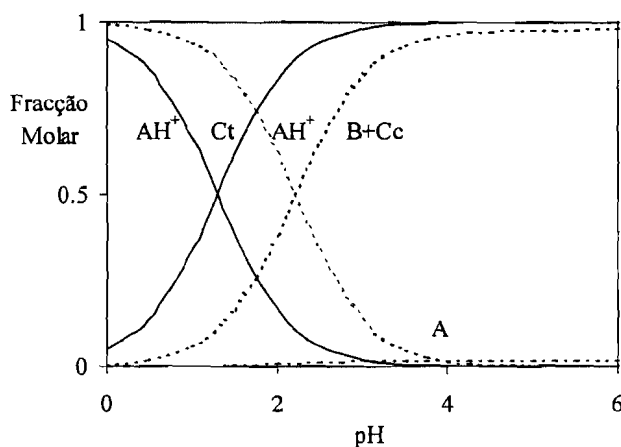


Figura 7.6- Distribuição das fracções molares do 4'-hidroxiflavílio na presença de CTAB ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) no: (---) pseudo-equilíbrio; (—) equilíbrio.

A comparação da distribuição das fracções molares na ausência de micelas (figura 7.1) e na presença de SDS (figura 7.5), mostra que o domínio das espécies foi desviado para a região mais básica e que a fracção de base quinoidal nos equilíbrios se tornou muito superior. Estas alterações vão repercutir-se nos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* que na presença de SDS podem *trancar* espontaneamente a pH 5.5 (pH ao qual a fracção molar de Ct no equilíbrio é igual à fracção molar de AH^+ no pseudo-equilíbrio)

onde apresentam uma conversão máxima de Ct de 90% dado existirem 10% de base quinoidal no equilíbrio. No que respeita à presença de CTAB (figura 7.6), esta conduz a um desvio do domínio das espécies para a região mais ácida e a uma fracção inferior de base quinoidal nos equilíbrios. Quanto aos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, na presença de CTAB podem *trancar* espontaneamente a pH 1.9 onde apresentam uma conversão máxima de Ct de 75% dado existirem 25% de catião flavílio no equilíbrio. No caso do Triton X-100 o comportamento é muito semelhante ao encontrado para o CTAB embora com alterações menos acentuadas.

7.2.2.2. Ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*

Quando uma solução aquosa de 4'-hidroxiflavílio equilibrada em Ct a pH 1.9 na presença de CTAB é irradiada a 365nm, é visível um decréscimo da banda de absorção da Ct a 350nm e o concomitante aumento da banda a 445nm do AH^+ , à semelhança do que acontece na ausência de micelas (figura 7.7). No entanto o rendimento quântico determinado na presença de CTAB é $\Phi=0.08$ que corresponde ao dobro do rendimento quântico determinado na ausência de micelas.

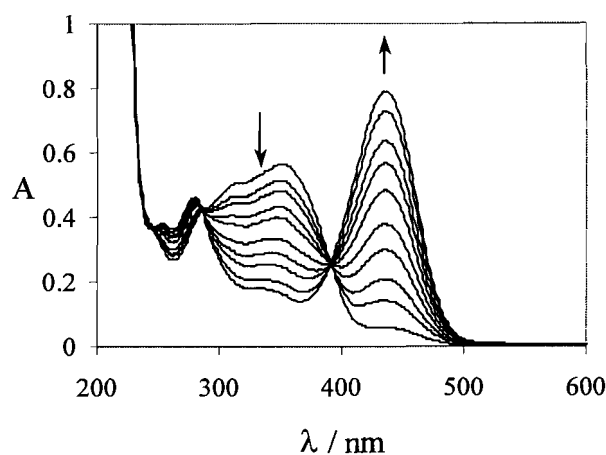


Figura 7.7- Irradiação de uma solução aquosa de 4'-hidroxiflavílio ($5 \times 10^{-5} M$) na presença de CTAB ($5 \times 10^{-2} M$) equilibrada em Ct a pH 1.9. Tempo de irradiação: 0, 0.25, 0.5, 0.45, 1, 1.5, 2, 2.5, 4, 8 min.

Na presença de SDS e Triton X-100 o comportamento é análogo ao observado na presença de CTAB, determinando-se rendimentos quânticos de $\Phi=0.09$ e $\Phi=0.10$ respectivamente. Após irradiação, a solução contendo AH^+ a pH 1.9 na presença de CTAB (pseudo-equilíbrio) lentamente retorna a Ct (equilíbrio termodinâmico) com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é de $12 \times 10^{-5} s^{-1}$, superior à determinada na ausência de micela ($7.8 \times 10^{-5} s^{-1}$). Este processo que transforma AH^+ em Ct corresponde ao passo *apagar* nos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, cuja velocidade na presença das várias micelas é apresentada na tabela 7.2.

No que respeita à fotólise relâmpago, na figura 7.8 encontra-se representada a variação espectral após um relâmpago 450nm (AH^+) e a 310nm (Ct) para uma solução aquosa de 4'-hidroxiflavílio ($5 \times 10^{-5} M$) na presença de CTAB ($2 \times 10^{-5} M$). É visível que a absorvância a 310nm decresce durante o relâmpago, correspondendo à transformação de Ct em B+Cc dado nesta escala de tempo não ser detectada variação na absorvância do AH^+ a 450nm. Depois, em segundos ocorre um segundo processo com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é de $0.09 s^{-1}$ quer a 310nm quer a 450nm, que corresponde ao aparecimento de AH^+ à custa de B+Cc.

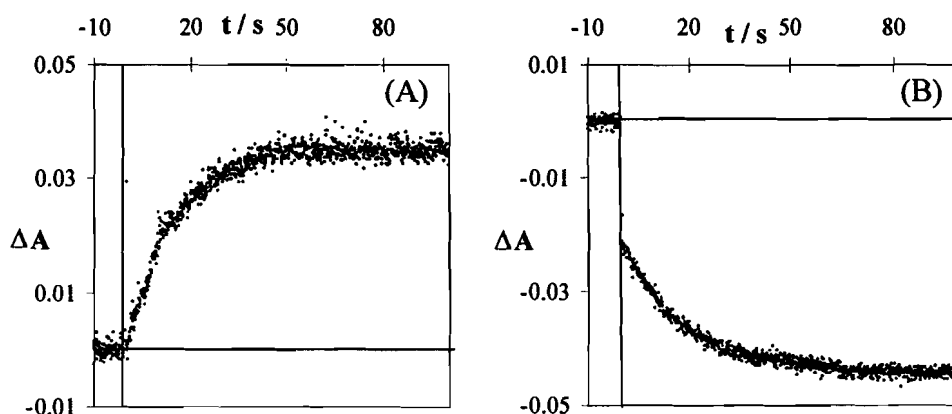


Figura 7.8- Variação espectral após um relâmpago sobre uma solução aquosa de 4'-hidroxiflavílio ($5 \times 10^{-5} M$) na presença de CTAB ($5 \times 10^{-2} M$) equilibrada em Ct a pH 1.9: (a) 450nm, (b) 310nm.

Esta transformação de Ct em AH^+ por acção de luz corresponde ao passo *escrever* nos ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, cuja velocidade na presença de CTAB é então $0.09s^{-1}$, cerca de dez vezes mais lento que na ausência de micela. No caso da presença de SDS ou Triton X-100 a velocidade do passo *escrever* também é alterada como se vê na tabela 7.2.

Tabela 7.2

	pH	Φ	$k_{\text{escrever}} (s^{-1})$	$k_{\text{apagar}} (s^{-1})$
CTAB	1.9	0.08	0.09	12.0
Triton X-100	2.4	0.10	0.06	8.3
SDS	5.5	0.09	2.3	18.0
Água	3.2	0.04	0.7	7.8

A eficiência do passo *escrever* ao pH a que o sistema *tranca* espontaneamente depende do rendimento quântico de fotoisomerização e da velocidade de conversão de B+Cc em AH^+ . Como se vê na tabela 7.2 a presença de qualquer das micelas aumenta o rendimento quântico cerca de duas vezes, enquanto que a velocidade de conversão de B+Cc em AH^+ varia consoante a micela, sendo superior em SDS e inferior em CTAB e Triton X-100. A velocidade do passo *apagar* também varia consoante a micela em causa, no entanto em todas elas é superior à determinada em água. De um modo geral pode concluir-se que na presença de micelas de SDS o ciclo de *escrever-ler-apagar* ao pH a que o passo *trancar* se dá espontaneamente (*auto-trancar*) é mais eficiente que na ausência de micelas, uma vez que tanto o rendimento quântico de fotoisomerização e a velocidade de conversão de B+Cc em AH^+ (passo *escrever*), como a velocidade de conversão de AH^+ em Ct (passo *apagar*) apresentam valores mais elevados.

7.2.3. Micelas como um novo estímulo

Já foi visto que a interconversão entre as várias espécies do 4'-hidroxiflavílio em solução aquosa pode ser feita através de dois tipos de estímulos: luz e alteração de pH. No entanto a adição de micela pode agora ser considerada como um terceiro estímulo e assim acrescentar mais uma alternativa no ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. Assim, partindo de Ct a pH 5.5 pode ser construído um ciclo alternativo baseado na adição de SDS, como se pode ver na figura 7.9.

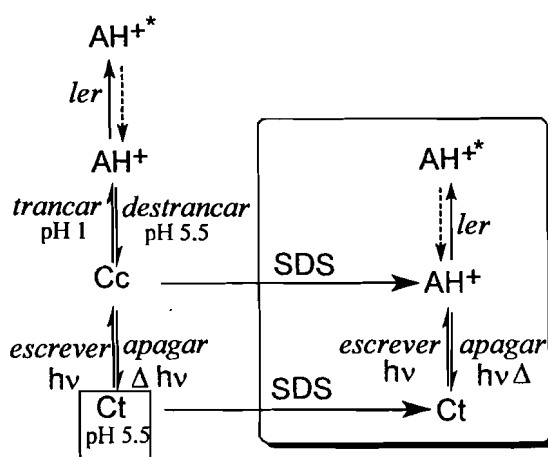


Figura 7.9- Ciclo de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* partindo de Ct a pH 5.5, utilizando adição de SDS como um novo estímulo.

Do ponto de vista da execução de funções lógicas, partindo de Ct a pH 5.5 e tomando a formação de AH^+ (A_{436} ou A_{450}) como resposta, a tabela de verdade resultante da acção de três estímulos (luz, pH, adição de micela) corresponde a uma função peculiar: função OU que apenas é activada pela presença de um terceiro estímulo (ver tabela 7.3).

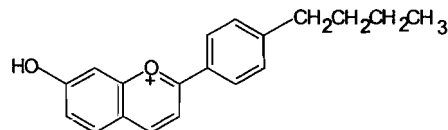
Tabela 7.3

Estímulo 1 (Salto de pH para 1)	Estímulo 2 (Adição de SDS)	Estímulo 3 (luz $_{365\text{nm}}$)	Resposta ($A_{450\text{nm}}$)
1	0	0	0
0	1	0	0
1	1	0	0
0	0	0	0
1	0	1	1
0	1	1	1
1	1	1	1
0	0	1	0

7.2.4. Conclusão

A presença de micelas afecta tanto a nível termodinâmico como cinético os processos envolvidos nos equilíbrios apresentados pelo 4'-hidroxiflavílio em solução aquosa. Particularmente micelas carregadas negativamente (SDS) e positivamente (CTAB) têm efeitos opostos nos pK dos equilíbrios ácido-base que se estabelecem entre o AH^+ e as espécies neutras. As primeiras conduzem a desvios positivos do pK, enquanto que as segundas conduzem a desvios negativos. Em termos cinéticos de um modo geral o SDS leva a um aumento das velocidades de interconversão das espécies, enquanto que o CTAB e o Triton X-100 têm efeitos diferentes consoante a reacção em causa. Os rendimentos de fotoisomerização da chalcona aumentam para aproximadamente o dobro na presença de qualquer uma das micelas relativamente ao determinado em água.

7.3.Efeito de micelas nas transformações estruturais do tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiavilíio.



7.3.1. Solução aquosa

Quando uma solução de tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiavilíio a pH 1 contendo AH^+ ($\lambda_{\max}=440\text{nm}$, $\epsilon=27000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 5, verifica-se que a banda de absorção a 440nm do catião flavílio decresce, aparecendo uma nova banda a cerca de 480nm característica da base quinoidal e uma outra a cerca de 380nm correspondente a chalcona *trans*, conforme se verá mais à frente. Ao fim de 1 dia já foi atingido um equilíbrio entre AH^+ e Ct, ver figura 7.10. A representação da variação da absorvância a 440nm em função do pH (inserção na figura 7.10) permite determinar uma constante pK'_a de 2.1.

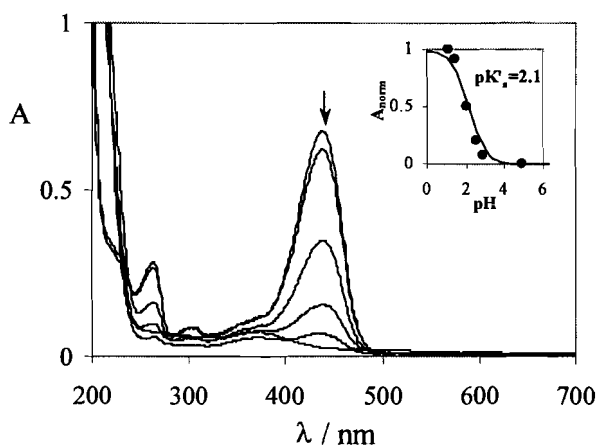


Figura 7.10 – Variação espectral 1 dia após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 5, para o 4'-butil-7-hidroxiavilíio ($2.5 \times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção está a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Um salto para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 5, mostra que não é visível de imediato recuperação de AH^+ , e que ao longo de 1h30 são recuperados apenas cerca de 25% de AH^+ (figura 7.11). Este comportamento mostra que a espécie existente no equilíbrio a pH 5 é Ct dado não haver recuperação imediata de AH^+ , mostra ainda que a barreira de isomerização da chalcona é baixa (como se prevê por acção do substituinte

hidroxilo na posição 7) dado a recuperação de AH^+ se dar em cerca de 1h30 e por fim mostra que houve degradação e/ ou precipitação uma vez que apenas são recuperados cerca de 25% de AH^+ .

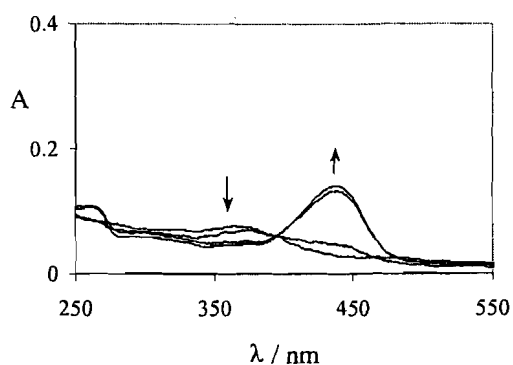


Figura 7.11– Variação espectral após um salto para pH 1 de uma solução de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2.5 \times 10^{-5} M$) equilibrada a pH 5. Tempo: 0min, 5min, 30min, 80min.

Por outro lado se for seguido um salto de pH de 1 para 4.6 é visível inicialmente o decréscimo da banda a 480nm correspondente à base quinoidal ao longo de 15 minutos para originar a banda a 380nm da Ct, findos os quais se inicia um processo que leva ao desaparecimento da banda a 380nm ao longo de 22 horas (figura 7.12).

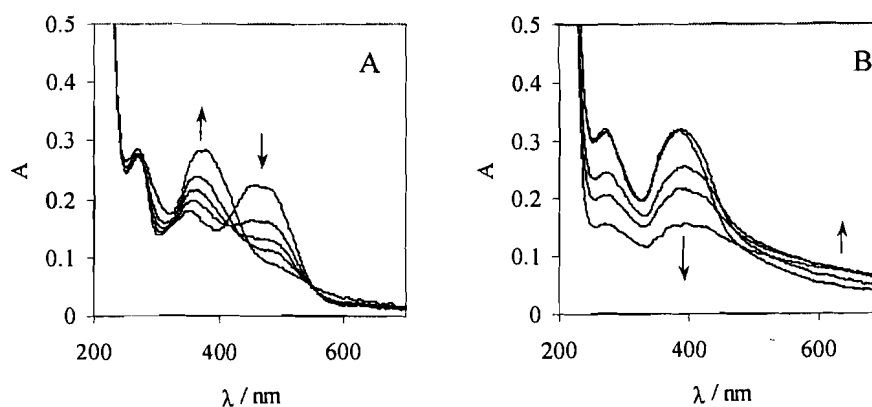


Figura 7.12– Variação espectral após um salto de pH 1 para 4.6 numa solução de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2.5 \times 10^{-5} M$). (A) tempo: 0, 1.5, 3, 4.5, 15 min; (B) tempo: 0.33, 0.55, 1.1, 2.66, 5.3, 22 h.

Este comportamento mostra que de facto Ct é formada e posteriormente desaparece por degradação ou precipitação com adsorção ao material de vidro, que após contactar com

soluções de Ct apresenta uma coloração amarelada de difícil remoção. Por este motivo não se torna muito interessante aprofundar o estudo deste composto em solução aquosa.

7.3.2. Solução contendo micelas

7.3.2.1. SDS

Quando uma solução aquosa de tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e SDS ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$), contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}} \approx 440 \text{nm}$, $\epsilon = 32000 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) a pH 1 é sujeita a um salto para pH 6.9, verifica-se que a banda de absorção a 440nm do catião flavílio desaparece, aparecendo uma nova banda a cerca de 480nm característica da base quinoidal que ao longo de 30 minutos dá origem a uma outra banda a 380nm correspondente a chalcona *trans*, ver figura 7.13. Esta banda a 380nm mantém-se constante ao longo do tempo não apresentando qualquer decréscimo ao contrário do que acontece na ausência de micela.

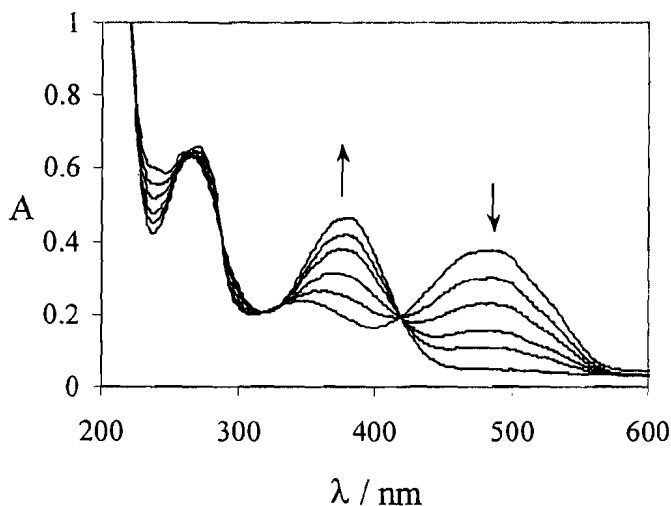


Figura 7.13— Variação espectral após um salto de pH 1 para 6.9 numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e SDS ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$). tempo: 0, 1.5, 3, 6, 9, 30 min.

Quando são efectuados diversos saltos de pH 1 para a gama de pH de 1 a 8, verifica-se que ao fim de 1 hora já foi atingido um equilíbrio entre AH^+ e Ct, ver figura 7.14. A representação da variação da absorvância a 440nm em função do pH (inserção na

figura 7.14) permite determinar uma constante pK'_a de 3.8, que apresenta um desvio positivo relativamente ao valor encontrado na ausência de micela.

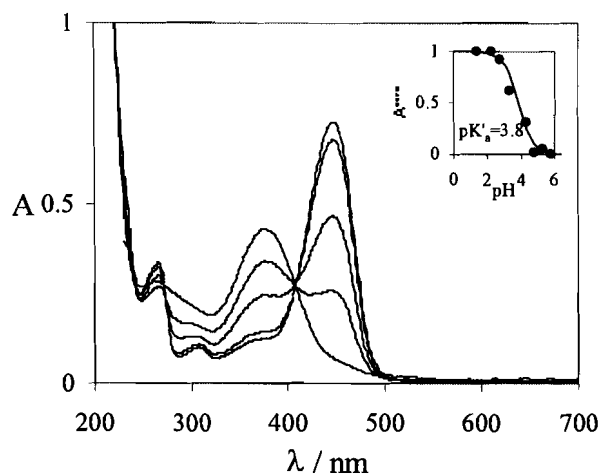


Figura 7.14 – Variação espectral 1 dia após vários saltos de pH 1 para pH de 1 a 8, para o 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) com SDS ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$). Na inserção: variação da fracção de AH^+ versus pH.

Um salto para pH 1 de uma solução equilibrada a pH 6, mostra que não é visível recuperação imediata de AH^+ , sendo recuperados ao fim de 30 minutos 100% de AH^+ a partir de Ct, com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é de 0.23min^{-1} (figura 7.15). Este comportamento mostra que tal como acontecia na ausência de micela no equilíbrio a pH 6 existe apenas Ct e que a barreira de isomerização da chalcona é baixa. No entanto na presença de micela há uma recuperação total de AH^+ , o que confirma a ausência de degradação ou precipitação.

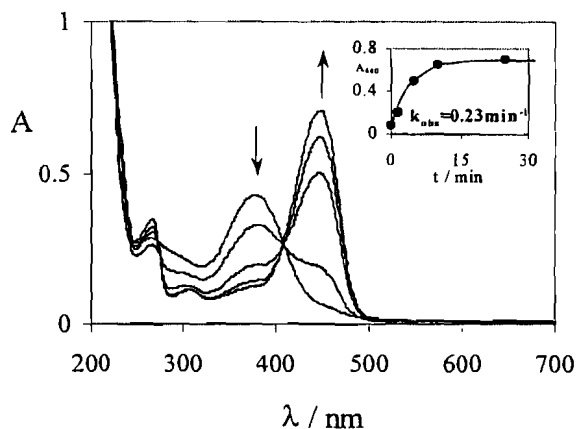


Figura 7.15— Variação espectral após um salto de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e SDS ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$) equilibrada a pH 6 para pH 1. Inserção: Absorvância a 440nm *versus* tempo

A fotólise por relâmpago de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de SDS, contendo chalcona *trans* a pH 6.9 mostra a presença de três processos consecutivos à semelhança do que acontece com o 7-hidroxiflavílio e o 7,4'-dihidroxiflavílio já estudados: primeiro dá-se o desaparecimento de Ct originando Cc e B na escala de tempo do relâmpago, em segundos Cc+B desaparecem revertendo uma fracção a Ct (figura 7.16(A)) e outra fracção formando AH^+ e A (figura 7.16(B)), e por fim em minutos a fracção de AH^+ e A formadas originam de novo Ct, sendo a total absorvância inicial desta espécie recuperada.

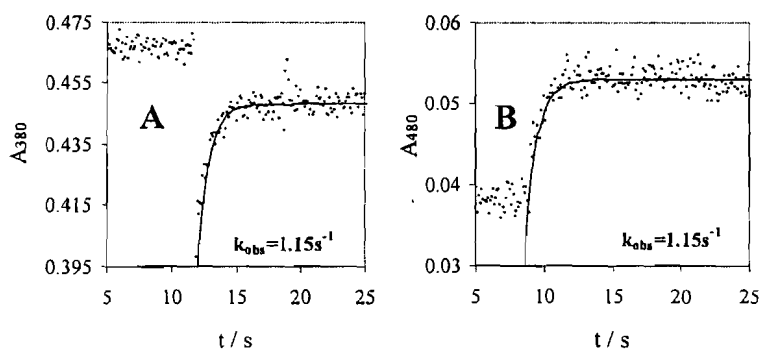


Figura 7.16- Fotólise por relâmpago de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e SDS ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$) equilibrada em Ct a pH 6.9 seguida a: (A) 380nm, (B) 480nm.

Da fotólise por relâmpago representada na figura 7.16 é possível retirar informação relativa às constantes cinéticas, uma vez que quando se segue a variação da absorvância quer a 480nm (AH^+ e A) quer a 380nm (Ct) é observada uma mesma cinética de primeira ordem que se torna mais eficiente com a diminuição do pH. A constante observada para esta cinética é dada por $k_{obs} = k_i + k_h[H^+]$, que corresponde à soma das constantes dos dois processos pelos quais desaparece Ct: a isomerização que controla o regresso a Ct e a desidratação que determina a formação de AH^+ e A.

Levando a cabo três fotólises por relâmpago a diferentes valores de pH, a representação gráfica das constantes observadas a cada um deles (tabela 7.4) em função da concentração de protão, origina uma recta cuja ordenada na origem corresponde a $k_i = 1.22s^{-1}$ e o declive a $k_h = 3.36 \times 10^5 s^{-1}$.

Tabela 7.4

pH	5.6	6.0	6.9
k_{obs} / s^{-1}	2	1.74	1.15

O espectro diferencial obtido após diversas fotólises por relâmpago, seguidas a diferentes comprimentos de onda, de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de SDS contendo chalcona *trans* a pH 6, mostra que a excitação pelo relâmpago conduz ao desaparecimento da absorvância de Ct a 380nm e ao aparecimento de absorvância quer a 440nm de AH^+ quer a cerca de 500nm de A (figura 7.17(A)). A razão entre as absorvâncias a 440nm de AH^+ e a 500nm de A obtida após o relâmpago depende como seria de esperar do pH da solução, sendo maior quanto menor o pH (figura 7.17(B)).

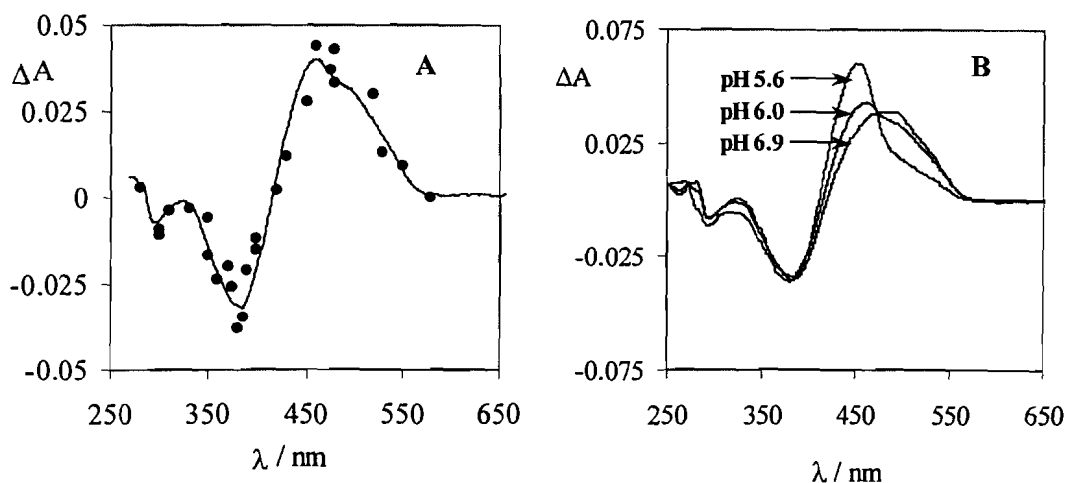


Figura 7.17- (A) Espectro diferencial obtido após diversas fotólises por relâmpago, seguidas a diferentes comprimentos de onda, de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de SDS contendo chalcona *trans* a pH 6. (B) Espectros diferenciais obtidos após a fotólise por relâmpago de soluções de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de SDS contendo chalcona *trans* a pH 5.6, 6 e 6.9.

Quando a partir de soluções de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a pH 1 contendo AH^+ , na presença de quantidades crescentes de SDS de 0 a $5 \times 10^{-2} \text{M}$, são levados a cabo saltos para pH 3 -pH ao qual na ausência de micela não existe AH^+ e na presença de micelas de SDS existe 100% de AH^+ - verifica-se pelos espectros de emissão de fluorescência (excitação a 406nm) que há um aumento da fracção de AH^+ com o aumento de concentração de micela (figura 7.18). O ponto de inflexão da função alfa que descreve a variação da fracção de AH^+ é a $\text{pSDS}=2.92$ que corresponde a $[\text{SDS}]=1.2 \times 10^{-3} \text{M}$, que é um valor inferior ao valor da concentração micelar crítica do SDS (inserção na figura 7.18). Quando é atingida a concentração micelar crítica ($[\text{SDS}]=1 \times 10^{-2} \text{M}$) a pH 3 existem cerca de 90% de AH^+ e 10% de Ct e finalmente a $[\text{SDS}]=2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ atingem-se os 100% de AH^+ .

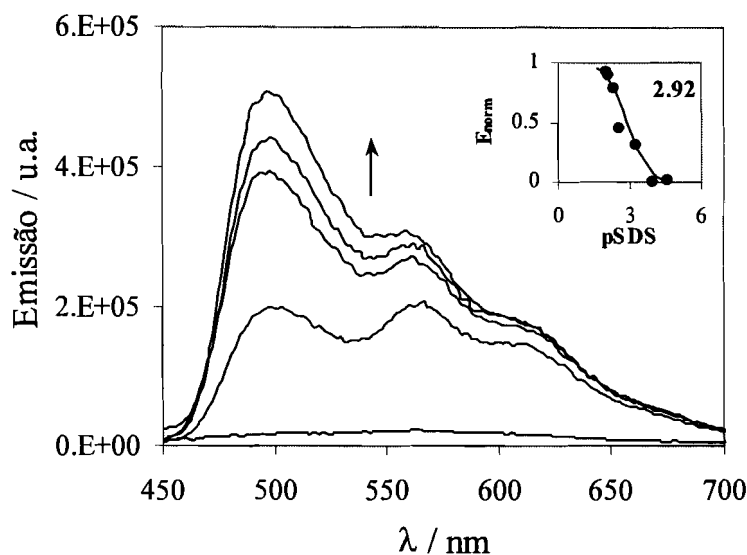


Figura 7.18- Espectros de emissão a pH 3 de soluções equilibradas de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de quantidades crescentes de SDS. $[\text{SDS}] = 0, 2.5 \times 10^{-3}, 5 \times 10^{-3}, 7.5 \times 10^{-3}, 2.5 \times 10^{-2} \text{M}$. Na inserção está a emissão a 500nm normalizada em função de pSDS.

A dependência da fracção molar de AH^+ da concentração de SDS permite utilizar a adição de tensioactivo como um estímulo alternativo à adição de protão, uma vez que permite obter uma variação da fracção molar de AH^+ .

7.3.2.2. CTAB

Quando uma solução aquosa de tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e CTAB ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$), contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}} = 450 \text{nm}$) a pH -1 ($[\text{HCl}] = 10 \text{M}$) é sujeita a diversos saltos para a gama de pH de -1 a 5, verifica-se que ao fim de 2 horas já foi atingido um equilíbrio entre AH^+ e Ct, não se detectando degradação ou precipitação desta última, ver figura 7.19. A representação da variação da absorvância a 450nm em função do pH (inserção na figura 7.19) permite determinar uma constante pK'_a de aproximadamente -0.6, que apresenta um desvio negativo relativamente ao valor encontrado na ausência de micela.

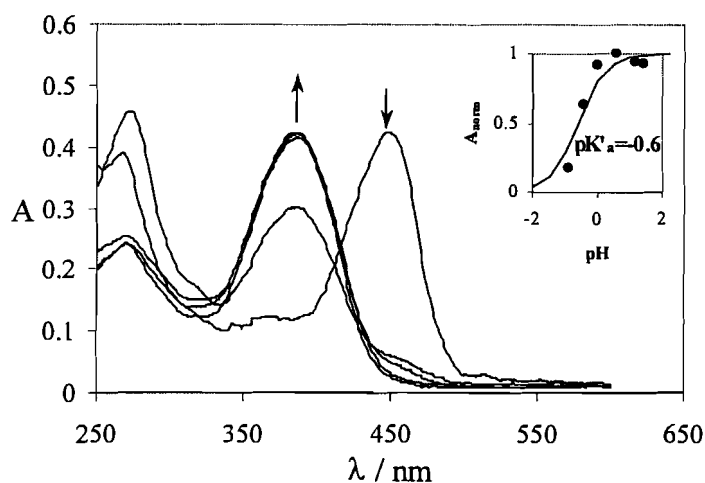


Figura 7.19 – Variação espectral 2 horas após vários saltos de pH -1 para pH de -1 a 5, para o 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) com CTAB ($2.5 \times 10^{-2} \text{ M}$). Na inserção: variação da fracção de Ct *versus* pH.

A fotólise por relâmpago de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de CTAB, contendo chalcona *trans* a pH 0.6 é análoga à obtida na presença de SDS, sendo visível o desaparecimento de Ct originando Cc e B na escala de tempo do relâmpago e posteriormente em segundos Cc+B desaparecem revertendo uma fracção a Ct (figura 7.20(A)) e outra fracção formando AH^+ (figura 7.20(B)). Ambos os processos ocorrem com uma cinética de primeira ordem cuja constante observada é dada por $k_{\text{obs}} = k_i + k_h[\text{H}^+] = 0.9 \text{ s}^{-1}$.

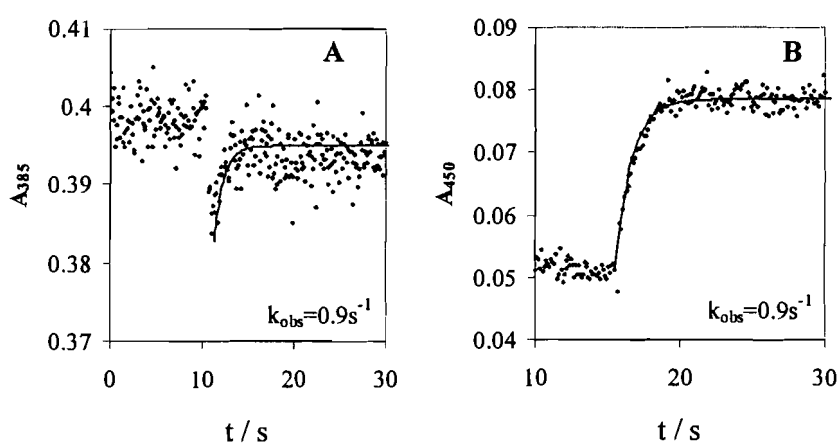


Figura 7.20- Fotólise por relâmpago de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) e CTAB ($2.5 \times 10^{-2} \text{ M}$) equilibrada em Ct a pH 0.6 seguida a: (A) 385nm, (B) 450nm.

O espectro diferencial resultante da fotólise por relâmpago a pH 0.6 mostra que a excitação pelo flash conduz ao desaparecimento da absorvância de Ct a 390nm e somente ao aparecimento de absorvância de AH^+ a 450nm (figura 7.21).

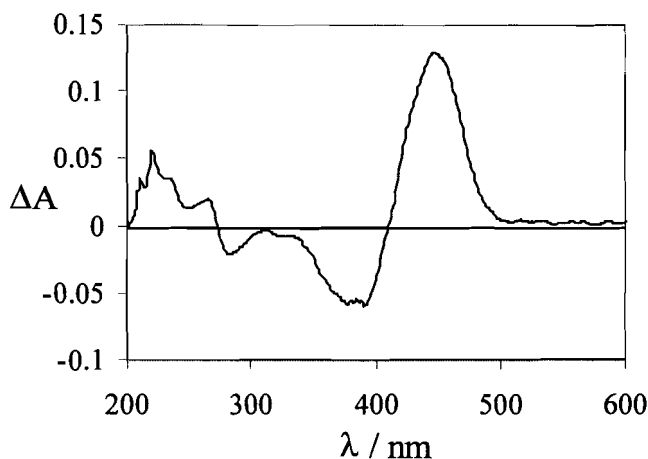


Figura 7.21- Espectro diferencial resultante da fotólise por relâmpago a pH 0.6 de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio na presença de CTAB contendo chalcona *trans*.

Quando a partir de soluções de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} M$) contendo AH^+ a pH -1 ($[HCl]=10M$), na presença de quantidades de CTAB de 0 a $5 \times 10^{-2} M$, são levados a cabo saltos para pH 1 -pH ao qual na presença de micelas não existe AH^+ e na ausência de micelas existe 100% de AH^+ - verifica-se pelos espectros de absorção (figura 7.22(A)) e de emissão de fluorescência (excitação a 406nm) (figura 7.22(B)) que há um aumento da fracção de Ct com o aumento de concentração de micela. O ponto de inflexão da função alfa que descreve a variação da fracção de Ct é a $-\log[CTAB]=pCTAB=3.6$ que corresponde a $[CTAB]=2.5 \times 10^{-4} M$, quatro vezes inferior ao valor da concentração micelar crítica do CTAB (inserções na figura 7.22). Quando é atingida a concentração micelar crítica ($[CTAB]=1 \times 10^{-3} M$) a pH 1 existem cerca de 15% de AH^+ e 85% de Ct e quando se atinge a $[CTAB]=5 \times 10^{-3} M$ existem 100% de Ct.

Mais uma vez, a dependência da fracção molar de Ct da concentração de CTAB permite utilizar a adição de tensioactivo como um estímulo alternativo à adição de ião hidroxilo, uma vez que permite induzir uma variação da fracção molar de Ct.

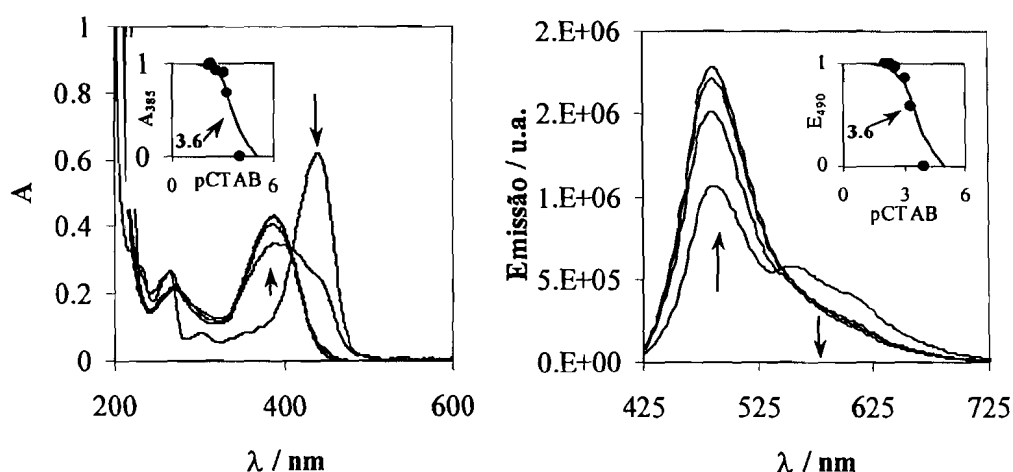


Figura 7.22- (A) Espectros de absorção (B) Espectros de emissão (exc.406nm) a pH 1 de soluções equilibradas de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de quantidades crescentes de CTAB. $[\text{CTAB}] = 0, 2.5 \times 10^{-3}, 5 \times 10^{-3}, 7.5 \times 10^{-3}, 2.5 \times 10^{-2} \text{M}$.

7.3.2.3. Triton X-100

Quando uma solução aquosa de tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) e Triton X-100 ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$), contendo AH^+ ($\lambda_{\text{máx}} = 445 \text{nm}$) a pH -1 ($[\text{HCl}] = 10 \text{M}$) é sujeita a vários saltos de pH para a gama de pH de -1 a 5, verifica-se que ao fim de 2 horas já se estabeleceu um equilíbrio entre AH^+ e Ct, ver figura 7.23. A representação da variação da absorvância a 445nm em função do pH (inserção na figura 7.23) permite determinar uma constante pK'_a de aproximadamente -0.2, que apresenta um desvio negativo relativamente ao valor encontrado na ausência de micela.

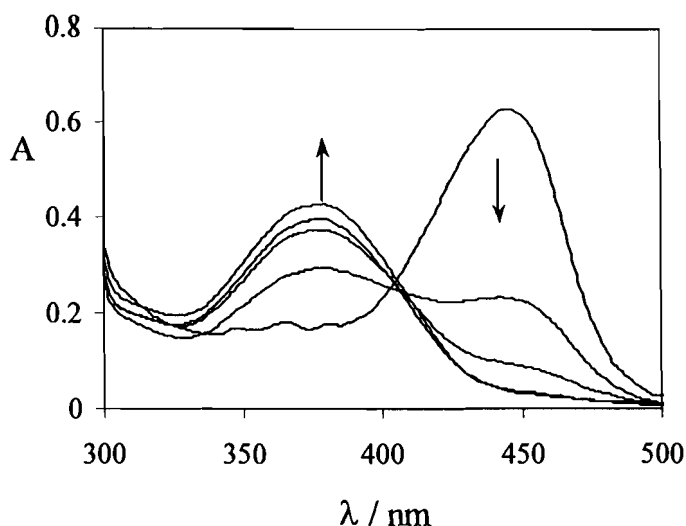


Figura 7.23 – Variação espectral 2 horas após vários saltos de pH -1 para pH de -1 a 5, para o 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) com Triton X-100 ($2.5 \times 10^{-2} \text{M}$).

O comportamento do tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio na presença de Triton X-100 não foi alvo de mais estudos uma vez que em princípio será semelhante ao que se verifica na presença de CTAB, embora as alterações provocadas pelo triton X-100 devam ser menos acentuadas.

7.3.2.4. SDS e CTAB

Quando a soluções de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de CTAB ($[\text{CTAB}] = 10^{-2} \text{M}$) a pH 1 contendo Ct, são adicionadas quantidades crescentes de SDS de 0 a $2 \times 10^{-2} \text{M}$, verifica-se pelos espectros de emissão de fluorescência (excitação a 406nm) (figura 7.24) que há um aumento da fracção de AH^+ com o aumento de concentração de SDS.

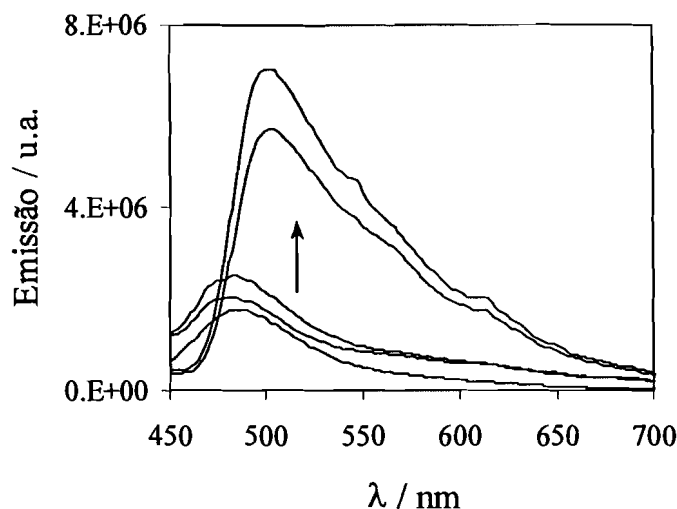


Figura 7.24- Espectros de emissão (exc.406nm) de soluções equilibradas de 4'-butil-7-hidroxiflavílio (2×10^{-5} M) a pH 1 na presença de [CTAB]= 10^{-2} M e de quantidades crescentes de SDS. [SDS]=0, 2.5×10^{-3} , 5×10^{-3} , 1×10^{-2} , 2×10^{-2} M.

O ponto de inflexão da função alfa que descreve a variação da fracção de AH^+ é a $pSDS=2.3$ que corresponde a $[SDS]=5 \times 10^{-3}$ M, quando é atingida a concentração micelar crítica ($[SDS]=1 \times 10^{-2}$ M) a pH 1 existem cerca de 85% de AH^+ e quando se atinge a $[SDS]=2 \times 10^{-2}$ M existem 100% de AH^+ .

A dependência da fracção molar de AH^+ da concentração de SDS em soluções contendo [CTAB]= 10^{-2} M, permite utilizar a adição de tensioactivo SDS como um estímulo adicional após adição de CTAB.

Quando a soluções de 4'-butil-7-hidroxiflavílio (2.5×10^{-5} M) na presença de SDS ($[SDS]=10^{-2}$ M) a pH 3 contendo AH^+ , são adicionadas quantidades crescentes de CTAB de 0 a 3.5×10^{-2} M, verifica-se pelos espectros de emissão de fluorescência (excitação a 406nm) (figura 7.25) que há uma diminuição da fracção de AH^+ com o aumento de concentração de CTAB.

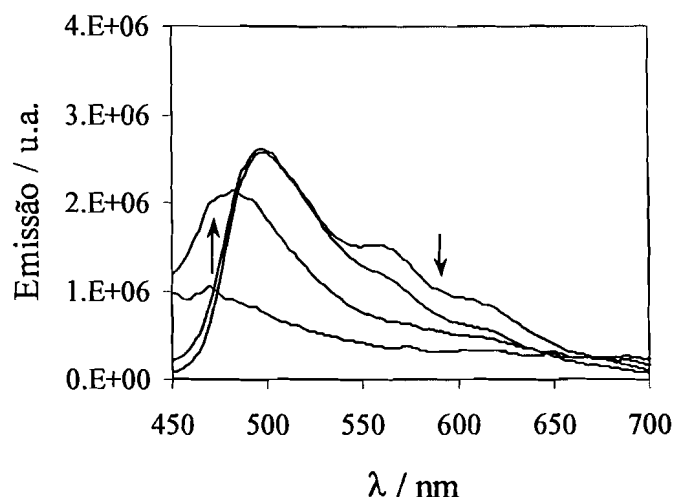


Figura 7.25- Espectros de emissão (exc.406nm) de soluções equilibradas de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio ($2 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de $[\text{SDS}] = 10^{-2} \text{M}$ a pH 3 e de quantidades crescentes de CTAB. $[\text{CTAB}] = 2.5 \times 10^{-4}, 2.5 \times 10^{-3}, 1 \times 10^{-2}, 3.5 \times 10^{-2} \text{M}$.

O ponto de inflexão da função alfa que descreve a variação da fracção de AH^+ é a $\text{pCTAB} = 2.1$ ($[\text{CTAB}] = 8 \times 10^{-3} \text{M}$) e quando se atinge $[\text{CTAB}] = 3.5 \times 10^{-2} \text{M}$ apenas restam cerca de 15% de AH^+ . Esta dependência da fracção molar de AH^+ da concentração de CTAB em soluções contendo $[\text{SDS}] = 10^{-2} \text{M}$, permite utilizar a adição de tensioactivo CTAB como um estímulo adicional após adição de SDS.

7.3.3. Micelas como um novo estímulo

No composto 4'-butil-7-hidroxi-flavílio devido a não existir barreira de isomerização da chalcona, ao contrário do que se passa com o 4'-hidroxi-flavílio, não pode ser utilizada a luz para produzir alterações duradouras na distribuição das fracções molares das espécies. Assim, na ausência de micelas apenas pode ser utilizada a alteração de pH como estímulo à variação da fracção molar de uma dada espécie no equilíbrio ($\text{ex}^\circ \cdot \text{AH}^+$), ou seja ao aparecimento/desaparecimento de determinada resposta ($\text{ex}^\circ \cdot A_{\text{AH}^+}$) que pode ser utilizada na construção de funções lógicas. No entanto um único estímulo não é de

grande interesse uma vez que só pode conduzir a funções do tipo SIM ou NÃO, que manifestam a presença ou ausência do estímulo em causa. No entanto, as várias micelas para além de neste caso evitarem a degradação (ou precipitação) de chalcona *trans*, podem ser utilizadas como estímulos adicionais ao pH e permitir a construção de outras funções lógicas.

Quando se parte de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a $\text{pH}=1$ contendo AH^+ e se adicionam quantidades crescentes de CTAB até se atingir $\text{pCTAB}=2$, verifica-se que o AH^+ decresce originando Ct. Posterior diminuição do pH leva ao desaparecimento de Ct e formação de AH^+ , ver figura 7.26.

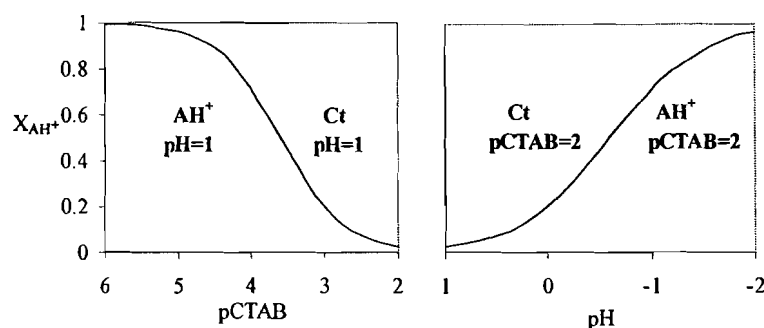


Figura 7.26- Esquerda: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio a pH 1 contendo AH^+ versus pCTAB ; Direita: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio com $\text{pCTAB}=2$ versus pH .

Se do mesmo modo se partir de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a pH 1 contendo AH^+ e se adicionar CTAB até o AH^+ desaparecer, pode posteriormente ser substituída a adição de protão utilizada no exemplo anterior por adição de SDS e assim induzir o reaparecimento de AH^+ , ver figura 7.27.

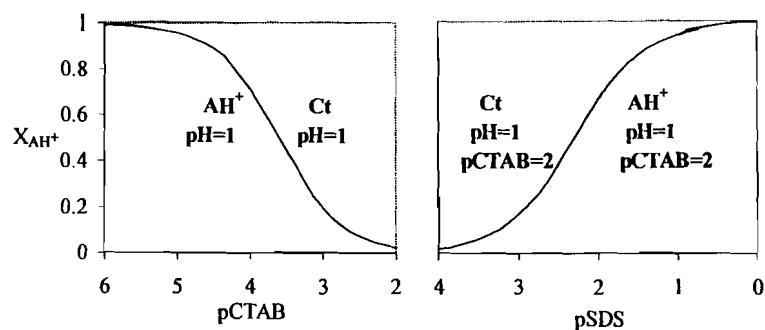


Figura 7.27- Esquerda: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio a pH 1 contendo AH^+ versus $pCTAB$; Direita: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio com $pCTAB=2$ e $pH=1$ versus $pSDS$.

Alternativamente pode ser substituída a adição inicial de CTAB por adição de ião hidroxilo. Assim, partindo de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} M$) a $pCTAB=2$ e aumentando o pH verifica-se o desaparecimento de AH^+ . Posteriormente a adição de SDS induz o reaparecimento de AH^+ , ver figura 7.28.

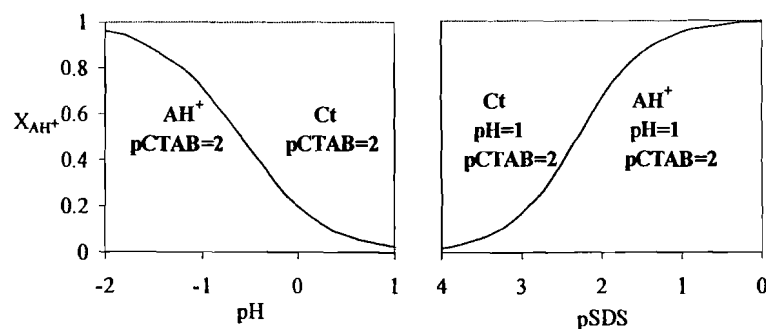


Figura 7.28- Esquerda: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio a $pCTAB=2$ contendo AH^+ versus pH ; Direita: Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio com $pCTAB=2$ e $pH=1$ versus $pSDS$.

Do ponto de vista da execução de funções lógicas, podem ser obtidas as funções E e OU e as suas respectivas negações variando as condições iniciais do sistema (pH , $pCTAB$), os estímulos utilizados (pH , $pSDS$, $pCTAB$) e as respostas detectadas (existência de AH^+ ou Ct), ver tabelas 7.5 e 7.6 .

Partindo de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a $\text{pH}=1$ e utilizando como estímulos a adição de hidroxilo e a adição de CTAB, é possível obter uma função E questionando a existência de Ct e a negação da função E questionando a existência de AH^+ (tabela 7.5).

Tabela 7.5

Estímulo 1 ($\text{pH}=1$)	Estímulo 2 ($\text{pCTAB}=2$)	Resposta (A_{AH^+})	Resposta (A_{Ct})
0	0	1	0
0	1	1	0
1	0	1	0
1	1	0	1

Partindo de uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a $\text{pH}=1$ e $\text{pCTAB}=2$ ($[\text{CTAB}]=10^{-2} \text{M}$) e utilizando como estímulos a adição de próton e a adição de SDS, é obtida uma função OU quando é questionada a existência de AH^+ e a negação da função OU quando é questionada a existência de Ct (tabela 7.6).

Tabela 7.6

Estímulo 1 ($\text{pH}=1$)	Estímulo 2 ($\text{pSDS}=1.5$)	Resposta (A_{AH^+})	Resposta (A_{Ct})
1	0	0	1
0	1	1	0
1	1	1	0
0	0	1	0

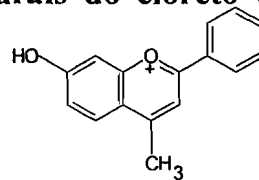
7.3.4. Conclusão

O 4'-butil-7-hidroxiflavílio tem uma barreira de isomerização relativamente baixa, pelo que em solução aquosa se estabelece rapidamente um equilíbrio entre AH^+ e Ct ($pK'_a=2.1$). No entanto Ct decresce ao longo do tempo indicando a existência de degradação/precipitação. A presença de micelas não só afecta a constante de equilíbrio entre AH^+ e Ct, como impede a degradação/precipitação desta última espécie, tornando possível o estudo do sistema. Como é expectável verifica-se que micelas carregadas negativamente levam a um desvio negativo do pK'_a ($pK'_a=3.8$) enquanto que micelas carregadas positivamente provocam um desvio negativo no pK'_a ($pK'_a\approx-0.6$).

Quando a uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio a um pH ao qual na ausência de micela SDS não existe AH^+ e na presença desta micela AH^+ é maioritário, são adicionadas quantidades crescentes de SDS verifica-se um aumento da fracção de AH^+ . A dependência da fracção de AH^+ da concentração de SDS permite utilizar a adição deste tensioactivo como estímulo alternativo à adição de protão, possibilitando aceder a uma variação da fracção molar de AH^+ a pH constante. Também a adição de CTAB a uma solução de 4'-butil-7-hidroxiflavílio a um pH ao qual existe AH^+ na ausência desta micela mas não na sua presença, leva ao desaparecimento desta espécie. Este comportamento permite utilizar a adição deste tensioactivo como um estímulo alternativo à adição de ião hidroxilo, uma vez que permite induzir uma variação da fracção molar de AH^+ a pH constante.

A utilização da alteração do pH como estímulo à variação da fracção molar de uma dada espécie no equilíbrio ($ex^\circ.AH^+$), ou seja ao aparecimento/desaparecimento de determinada resposta ($ex^\circ.A_{AH^+}$) apenas permite obter funções do tipo SIM ou NÃO, que manifestam a presença ou ausência do estímulo em causa. A possibilidade de utilizar a adição de micelas como estímulo adicional à alteração de pH permite ir mais longe e construir funções lógicas do tipo E e OU e as suas respectivas negações.

7.4. Efeito de micelas nas transformações estruturais do cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio.



7.4.1. Solução aquosa

Este composto foi estudado por espectroscopia de U.V.-Vis. no capítulo 2 onde se concluiu que em solução aquosa apenas existem as espécies AH^+ e A em equilíbrio com um $pK_a=4.30$ ($K_a=5.01 \times 10^{-5}$).

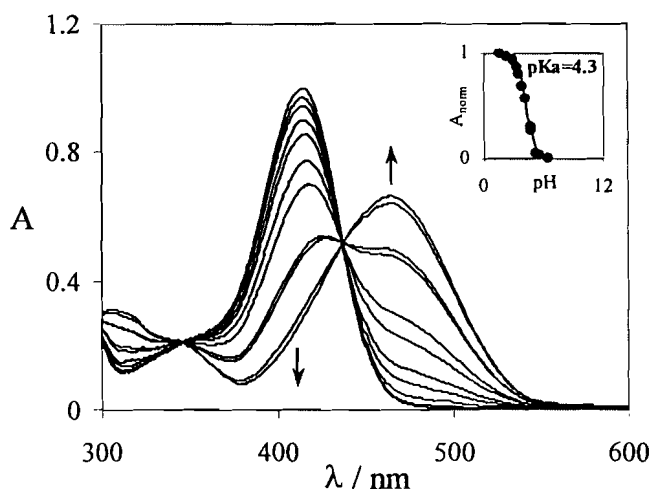


Figura 7.29 – Variação espectral de uma solução aquosa de cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio $5 \times 10^{-5} M$ em função do pH. Na inserção: fracção molar de AH^+ versus pH.

No entanto, quando o 7-hidroxi-4-metilflavílio é estudado por espectroscopia de emissão de fluorescência verifica-se que a valores de pH aos quais apenas absorve o catião flavílio (AH^+), por ser a única espécie presente no estado fundamental, existe emissão da base quinoideal (A). Este comportamento típico de sistemas que apresentam transferência de protão no estado excitado (TPEE)^[43,49, 78, 79] foi estudado por F. Pina que determinou para o 7-hidroxi-4-metilflavílio um $pK_a^*=-1$ no estado excitado,^[43] com base no modelo teórico desenvolvido no âmbito da teoria de Weller.^[80-82]

De facto verifica-se que a $\text{pH}=-0.3$ onde no estado fundamental só existe AH^+ , que é por isso a única espécie a absorver, a emissão obtida após excitação a 425nm é uma mistura da emissão de AH^+ (minoritária) e de A (maioritária), o que está de acordo com um pK_a^* de -1 , ver figura 7.30.

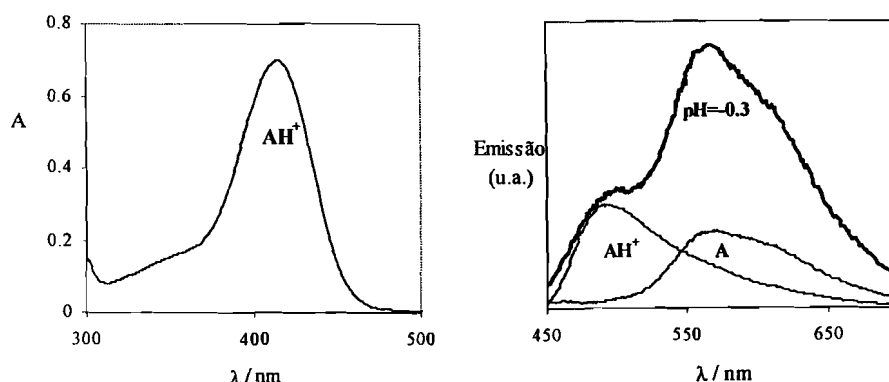


Figura 7.30-(Esquerda) Espectro de absorção de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio ($3.5 \times 10^{-5}\text{M}$) a $\text{pH}=-0.3$. (Direita) (—) Espectro de emissão de fluorescência (exc. 425nm) de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a $\text{pH}=-0.3$, (---) os espectros de emissão de AH^+ e de A.

7.4.2. Solução contendo micelas

Recentemente F. Pina e M. Maestri^[83] estudaram o efeito das micelas na transferência de próton no estado fundamental e no estado excitado, tendo concluído que no estado fundamental o pK_a sofre um desvio positivo na presença de micelas carregadas negativamente e um desvio negativo na presença de micelas carregadas positivamente, à semelhança do que se passa com o 4'-hidroxiflavílio e o 4'-butil-7-hidroxiflavílio. No estado excitado constataram que micelas carregadas negativamente provocavam um desvio positivo do pK_a^* como é expectável devido à permanência do AH^+ à superfície da micela, mas micelas carregadas positivamente também provocavam um desvio positivo do pK_a^* ao contrário do que acontece no estado fundamental (tabela 7.7). Este comportamento é explicado pelos autores considerando que na gama de pH onde se encontra o pK_a^* existe uma elevada concentração de iões Cl^- (provenientes do HCl) na superfície da micela

positiva que exercem uma atracção electrostática sobre o AH^+ , obrigando a um desvio positivo no pK_a^* (tabela 7.7).

Tabela 7.7^[83]

	pK_a	pK_a^*
CTAB	2.25	0.05
Triton X-100	3.3	-1.2
SDS	6.5	0.3
Água	4.4	-1

Os desvios provocados pelas micelas nos valores de pK_a apresentados na tabela 7.7 sugerem que também neste caso as micelas possam ser utilizadas como estímulo para fazer variar a fracção molar das espécies a pH constante.

Assim, quando a soluções de 7-hidroxi-4-metilflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) contendo base quinoidal a pH 5.5 são adicionadas quantidades crescentes de SDS de 0 a $6 \times 10^{-3} \text{M}$, verifica-se pelos espectros de absorção (figura 7.31) que a base quinoidal desaparece gradualmente originando AH^+ .

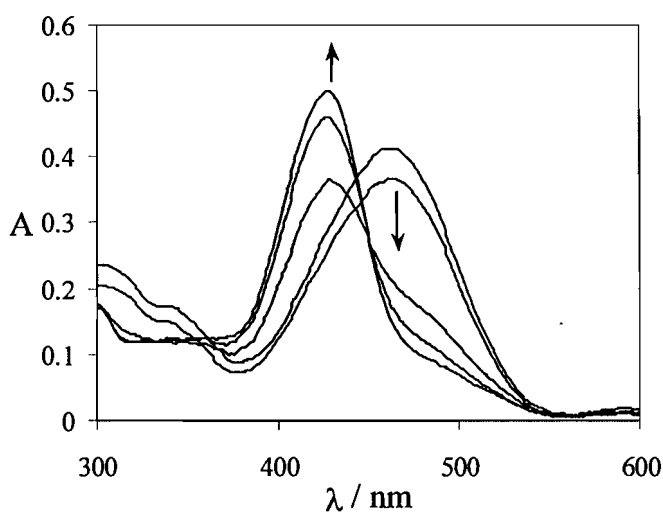


Figura 7.31- Espectros de absorção a pH 5.5 de soluções equilibradas de 7-hidroxi-4-metilflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de quantidades crescentes de SDS. $[\text{SDS}] = 0, 10^{-4}, 2 \times 10^{-3}, 3 \times 10^{-3}, 6 \times 10^{-3} \text{M}$.

No caso de ser seguida a variação da absorção e da emissão de fluorescência de soluções de 7-hidroxi-4-metilflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a $\text{pH} = -0.3$ na presença de quantidades crescentes de SDS de 0 a $8 \times 10^{-3} \text{M}$ (figura 7.32), verifica-se que o espectro de absorção é o característico do AH^+ e apenas sofre um pequeno desvio batocrômico com o aumento da concentração de SDS. No entanto o espectro de emissão de fluorescência que inicialmente é o característico de A, à medida que aumenta a concentração de SDS transforma-se gradualmente no espectro característico de AH^+ , reflectindo a variação de $\text{pK}_a^* = -1$ para $\text{pK}_a^* = 0.3$ na presença de micelas de SDS.

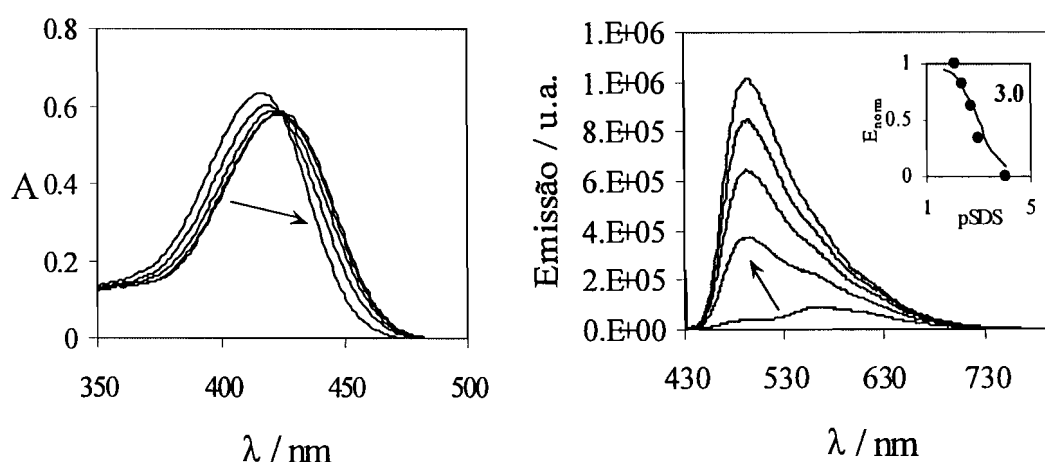


Figura 7.32- (A) Espectros de absorção (B) Espectros de emissão de soluções equilibradas de 7-hidroxi-4-metilflavílio ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) a $\text{pH} = -0.3$ na presença de quantidades crescentes de SDS. $[\text{SDS}] = 0, 10^{-3}, 2 \times 10^{-3}, 4 \times 10^{-3}, 8 \times 10^{-3} \text{M}$.

7.4.3. Micelas como um novo estímulo

O 7-hidroxi-4-metilflavílio em solução aquosa apenas apresenta AH^+ e A cujas fracções molares são determinadas pelo pH da solução. Deste modo, o pH funciona como estímulo ao aparecimento/desaparecimento de determinada resposta (ex° . A_{AH^+}) que pode ser utilizada na construção de funções lógicas do tipo SIM ou NÃO. No entanto, a adição de micelas pode ser utilizada alternativamente à alteração de pH como estímulo à variação das fracções molares das duas espécies. Mais ainda, conjugando esses dois estímulos

(alteração de pH e adição de micela) já é possível obter funções lógicas do tipo E e OU, como se verá em seguida.

Quando se parte de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a $\text{pH}=1$ e se varia o pH até $\text{pH}=5.5$ observa-se o desaparecimento de AH^+ e a formação de A. Posterior adição de SDS a pH constante até se atingir $\text{pSDS}=1.5$ leva ao reaparecimento de AH^+ devido ao pK_a na presença de SDS ser superior ao determinado na ausência de micela. Por fim a adição de íão hidroxilo à solução anterior com $\text{pH}=5.5$ e $\text{pSDS}=1.5$, conduz ao reaparecimento de base. Assim, por adição sucessiva de dois estímulos (adição de íão hidroxilo e adição de SDS) é possível obter uma resposta do sistema com um comportamento quase ondulatório (figura 7.33).

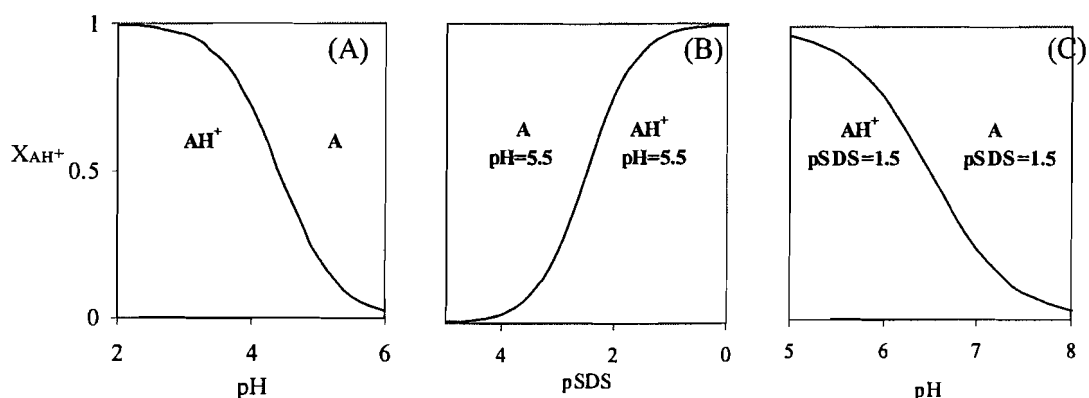


Figura 7.33- (A) Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio com a variação do pH de 1 a 5.5; (B) Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio $\text{pH}=5.5$ com a variação do pSDS; (C) Variação da fracção molar de AH^+ numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio $\text{pH}=5.5$ e $\text{pSDS}=1.5$ com a variação do pH de 5.5 a 7.5.

De modo análogo, quando se parte de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a $\text{pH}=1$ e se varia o pH até $\text{pH}=5.5$ observa-se por emissão de fluorescência a diminuição de AH^+ e o aumento de A no estado excitado. Posterior adição de SDS a pH constante até se atingir $\text{pSDS}=1.5$ leva ao reaparecimento de AH^+ como espécie maioritária no estado excitado devido ao pK_a^* na presença de SDS ser superior ao pK_a^* na ausência de micela.

Finalmente, adição de ião hidroxilo à solução anterior com $\text{pH}=-0.3$ e $\text{pSDS}=1.5$, conduz ao reaparecimento de base como espécie maioritária no estado excitado. Também neste caso é possível por adição sucessiva de dois estímulos (ião hidroxilo e SDS) obter uma resposta do sistema com um comportamento quase ondulatório (figura 7.34).

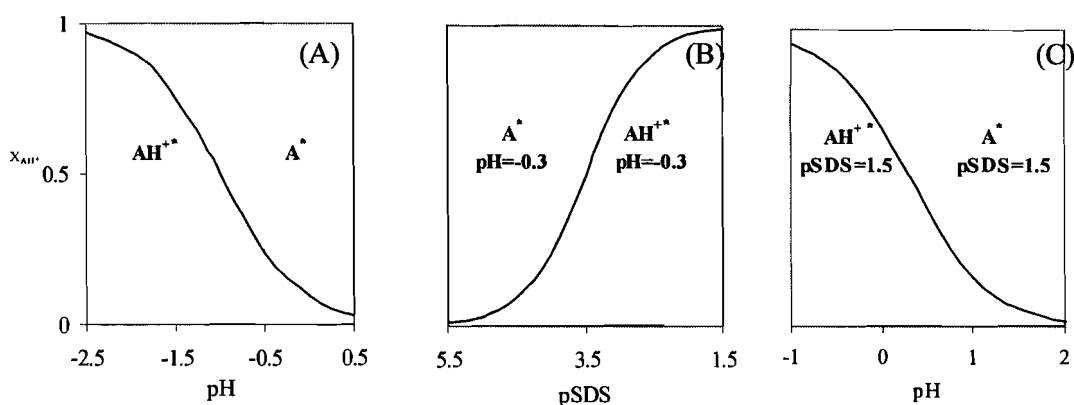


Figura 7.34- (A) Variação da fracção molar de AH^{+*} no estado excitado numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio com a variação do pH de -1 a -0.3; (B) Variação da fracção molar de AH^{+*} no estado excitado numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio $\text{pH}=-0.3$ com a variação do pSDS; (C) Variação da fracção molar de AH^{+*} no estado excitado numa solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio $\text{pH}=-0.3$ e $\text{pSDS}=1.5$ com a variação do pH de -0.3 a 1.

Como foi discutido anteriormente, a conjugação de dois estímulos (adição de protão e adição de micela) torna possível realizar as funções lógicas E e OU, representadas nas tabelas 7.8 e 7.9. Partindo de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a $\text{pH}=7.5$ e utilizando como estímulos a alteração de pH para $\text{pH}=5.5$ e a adição de micelas de SDS, obtém-se uma função E ao questionar a existência de AH^{+*} através da detecção da sua absorvância a 435nm (tabela 7.8).

Tabela 7.8

Estímulo 1 (pH=5.5)	Estímulo 2 (pSDS=1.5)	Resposta ($A_{435\text{nm}}$)
0	0	1
0	1	1
1	0	1
1	1	0

Por outro lado, partindo de uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a pH=5.5 e utilizando como estímulos a alteração de pH para pH=3.5 e a adição de micelas de SDS, obtém-se uma função OU ao questionar a existência de AH^+ através da detecção da sua absorvância a 435nm (tabela 7.9).

Tabela 7.9

Estímulo 1 (pH=3.5)	Estímulo 2 (pSDS=1.5)	Resposta ($A_{435\text{nm}}$)
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	1

7.4.4. Conclusão

O 7-hidroxi-4-metilflavílio em solução aquosa apenas apresenta catião flavílio e base quinoidal em equilíbrio com um $pK_a=4.3$ no estado fundamental e $pK_a^*=-1$ no estado excitado, devido a apresentar transferência de protão no estado excitado. A presença de micelas afecta a transferência de protão no estado fundamental e no estado excitado, conduzindo as micelas carregadas negativamente a um desvio positivo do pK_a no estado fundamental ($pK_a=6.5$) e no estado excitado ($pK_a^*=0.3$). Micelas carregadas positivamente

conduzem a um desvio negativo do pK_a no estado fundamental ($pK_a=2.25$) e a um desvio positivo do pK_a no estado excitado ($pK_a^*=0.05$).

A adição de micela SDS a uma solução de 7-hidroxi-4-metilflavílio a um pH ao qual não existe AH^+ na ausência desta micela mas existe na sua presença, leva ao aparecimento desta espécie à custa do desaparecimento de A.

Os desvios provocados pelas micelas nos valores de pK_a quer do estado fundamental quer do estado excitado, assim como a dependência da fracção de AH^+ da concentração de SDS a um determinado pH constante, permitem que as micelas possam ser utilizadas como estímulo alternativo ou adicional ao pH na construção de funções lógicas do tipo E e OU.

Capítulo 8. Complexação de alumínio(III) por sais de flavílio

8.1.Introdução

O catião flavílio (corado) é a espécie predominante em solução aquosa a pH muito ácido, mas à medida que o pH aumenta formam-se hemicetal e chalconas incolores conduzindo a uma perda de cor. No entanto, *in vivo* as antocianinas encontram-se nos vacúolos das plantas a um pH desde moderadamente ácido até quase neutro e a cor é mantida. Este fenómeno foi alvo de numerosas investigações desde a apresentação da estrutura básica das antocianinas por *Willstätter* em 1915, que logo refere que a captura de cores nas plantas deve estar relacionada com a combinação com outros pigmentos existente no meio intracelular ou através de associações que incluam metais alcalinos como o potássio.^[4]

Em 1919 *Shibata*^[84] mostra que a captura da cor azul nas flores se prende de facto com a *complexação de metais* embora não de potássio e sim de magnésio. Posteriormente, na década de 30, *Robinson*^[85,86] estuda a reacção de antocianinas à adição de copigmentos incolores (flavonas e flavonóides) introduzindo o termo *copigmentação*. Nos anos 60 *Iurd* e *Asen*^[87,88] desenvolvem várias investigações propondo a existência em diversas plantas de complexos que envolvam concomitantemente a combinação com copigmentos e metais (alumínio e ferro). Já na década de 70, *Ansen*^[89] observa que um aumento da concentração de antocianina conduz a um aumento relativo na intensidade da cor, sendo por isso a *auto-associação* uma estratégia possível para a conservação da cor. Mais tarde, em 1991, *GoTo* e *Kondo*^[90] revisitam o estudo do pigmento azul da *Commelina Communis* e provam estar na presença de uma supramolécula constituída por 6 unidades de uma antocianina, 6 unidades de uma flavona e 2 átomos de Mg^{2+} , ou seja uma estrutura baseada em co-

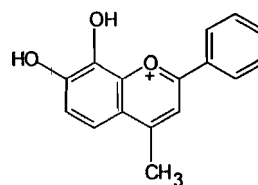
pigmentação, complexação com metais e auto-associação, mostrando que a natureza não usa uma só estratégia para conseguir a cor.

De um modo geral pode dizer-se que a estabilização da cor nas antocianinas se baseia em evitar que em meio fracamente ácido ocorra o ataque nucleófilo da água ao catião flavílio, do qual resulta a formação de hemiacetal e chalconas incolores. Este objectivo é conseguido de diversos modos: i) por auto-associação das formas coradas (catião flavílio e base quinoidal), cuja concentração nas células chega a ser de 0.02M,^[90] ii) por copigmentação das formas coradas com copigmentos incolores independentes (polifenóis) ou partes integrantes da estrutura da antocianina (exº. resíduos cinâmicos ligados aos açúcares), iii) por complexação de metais (magnésio, ferro) e iv) pela formação de estruturas complexas através de mais que uma das anteriores estratégias.

Apesar de não se conhecerem casos na natureza em que o alumínio (III) seja utilizado por antocianinas como estratégia para manter a cor, a complexação de alumínio (III) por catecóis, ou seja moléculas que apresentem dois hidroxilos adjacentes substituídos num anel aromático, levando à formação de complexos envolvendo uma ou mais unidades catecol é largamente conhecida.^[91] Por este motivo, a reacção à adição de alumínio é utilizada para detectar a presença de grupos catecol na estrutura de determinadas moléculas, nomeadamente flavonóides.^[92] Também no caso de sais de flavílio, a presença de grupos catecol permite a complexação de alumínio por uma ou mais moléculas de base quinoidal, podendo ser utilizada como modelo de estratégia para prevenir a perda de cor uma vez que estabiliza uma forma corada.^[93-95]

Ao longo deste capítulo é estudada a complexação de alumínio (III) por sais de flavílio contendo um grupo catecol e de que modo esta complexação afecta as transformações estruturais apresentadas por esses sais de flavílio em solução aquosa.

8.2. Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio



8.2.1. Solução aquosa

Tal como acontece com outros flavílios com um grupo metilo substituído na posição 4, também o 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio apresenta na gama de pH de 1 a 6 apenas catião flavílio e base quinoidal. Assim, à medida que o pH aumenta é possível observar o decréscimo da banda a 375nm correspondente a AH^+ ($\epsilon=20000M^{-1}cm^{-1}$) e o aparecimento de uma nova banda a 515nm correspondente a A, numa transformação que apresenta sete pontos isobésticos (figura 8.1).

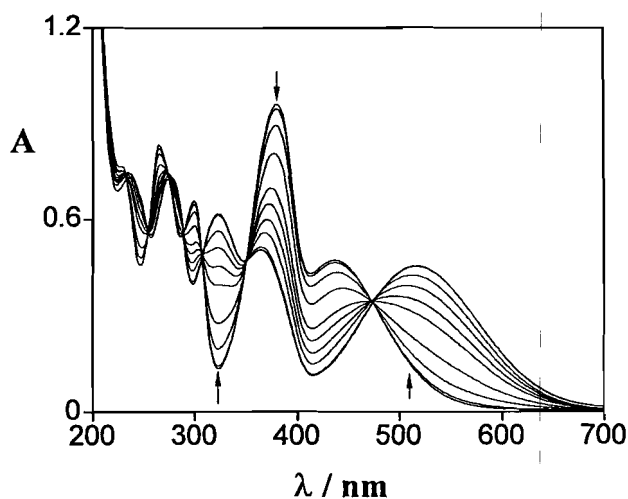


Figura 8.1- Variação do espectro de absorvância de uma solução de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} M$) em função do pH: 2.2, 2.64, 3.26, 3.66, 4.17, 4.36, 4.61, 4.95, 5.86, 6.16.

A pH superior a 6 a banda da base quinoidal a 515nm decresce de intensidade e desloca-se para maiores comprimentos de onda devido à formação de base quinoidal ionizada, ver figura 8.2.

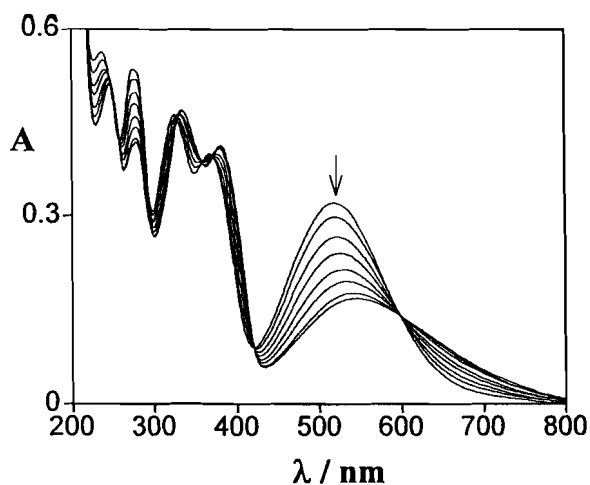
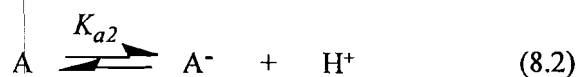
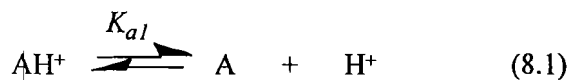


Figura 8.2- Variação do espectro de absorvância de uma solução de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) em função do pH: 5.80, 6.02, 6.42, 6.62, 6.82, 7.00, 7.17, 7.34.

Uma vez que o grupo metilo na posição 4 previne a hidratação não há formação de hemiacetal e chalconas, pelo que os equilíbrios presentes em solução são os seguintes:



A pH muito ácido existe como forma maioritária o catião flavílio amarelo que à medida que o pH se torna fracamente ácido origina a base quinoidal vermelha (8.1). Quando o pH se aproxima da zona neutra a base quinoidal vermelha dá origem à base ionizada azul (8.2). No entanto quer a base quinoidal quer a base quinoidal ionizada são instáveis originando perda de cor algum tempo após a sua formação, provavelmente devido à tendência que apresentam como orto-hidroquinonas a oxidar facilmente a quinonas na presença de oxigénio. Pode comprovar-se que esta degradação é devida à presença de oxigénio, uma vez que um salto de pH de 1 para 7 seguido de um salto reverso de pH 7

para 1 na ausência de oxigénio, leva à recuperação de 100% de AH^+ . Por este motivo a determinação das constantes de acidez K_{a1} e K_{a2} foi efectuada seguindo a variação da absorvância a 515nm em função do pH em soluções de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio desarejadas com argon, tendo-se obtido $pK_{a1}=4.0$ e $pK_{a2}=6.8$ (figura 8.3).

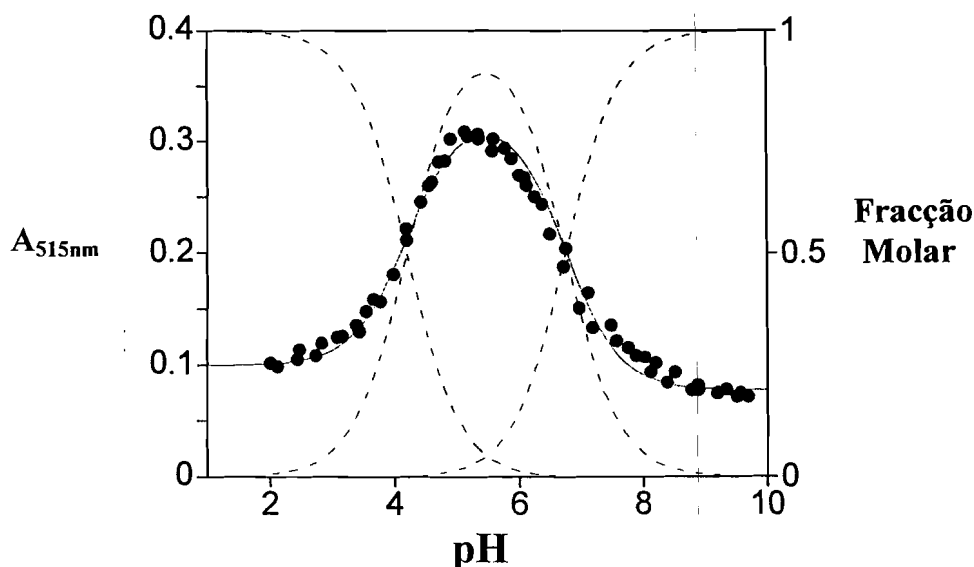


Figura 8.3- Variação da absorvância do 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio a 515nm em função do pH. O assentamento da curva foi conseguido com $pK_{a1}=4.0$ e $pK_{a2}=6.8$. A tracejado encontra-se a respectiva distribuição das fracções molares.

8.2.2. Na presença de Al (III)

Tal como se viu anteriormente, é possível com o 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio obter a cor azul correspondente à sua base quinoidal ionizada. No entanto apesar de não se formarem hemiacetal e chalconas incolores, esta cor não é estável devido à existência de degradação na presença de oxigénio. Para evitar esta perda de cor, à semelhança da estratégia utilizada pela natureza em algumas plantas, pode ser utilizada a capacidade do grupo catecol complexar alumínio para estabilizar a base quinoidal.

Os espectros de absorção de soluções de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) equilibradas 1 dia na presença de cloreto de alumínio (III) ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) encontram-se representados na figura 8.4.

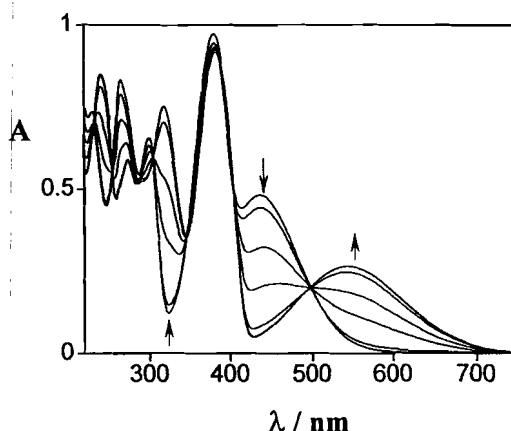
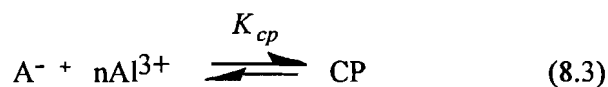


Figura 8.4- Variação dos espectros de absorvância de soluções de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) equilibradas 1 dia na presença de AlCl_3 ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH: 0.45, 1.20, 1.66, 2.40, 2.88, 3.60.

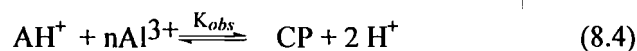
A figura 8.4 mostra que a pH muito ácido o espectro obtido é coincidente com o espectro do AH^+ na ausência de alumínio, pelo que a estes valores de pH não se dá complexação. À medida que o pH aumenta aparece uma banda a cerca de 550nm que não coincide com a banda da base quinoidal e que se mantém constante na gama de pH entre 3 e 6. A partir de pH 6 e até pH 8 aparece uma nova espécie azul, no entanto a precipitação de hidróxidos de alumínio nesta gama de pH não permite o seu estudo.

Assim, a formação do complexo estável entre pH 3 e 6 corresponde à adição de um novo equilíbrio aos anteriores (8.1) e (8.2):



onde CP corresponde ao complexo formado com alumínio, n é a estequiometria de coordenação do alumínio (III) no complexo e K_{cp} a constante de complexação.

No entanto a existência de pontos isobésticos na variação espectral representada na figura 8.4 indica que o equilíbrio se dá entre AH^+ e o complexo, pelo que o processo global pode ser representado por (8.4):



onde CP corresponde ao complexo formado com alumínio, n é a estequiometria de coordenação do alumínio (III) no complexo e K_{obs} é dado por:

$$K_{obs} = \frac{[CP] \times [H^+]^2}{[AH^+] \times [Al^{3+}]^n} = \frac{K_{cp} \times [A^-] \times [H^+]^2}{[AH^+]} = \frac{K_{cp} \times K_{a2} \times [A] \times [H^+]}{[AH^+]} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow K_{obs} = K_{cp} K_{a2} K_{a1} \quad (8.5)$$

Quando se está em presença de um largo excesso de alumínio (III), facilmente se deduz que a distribuição das fracções molares das duas espécies presentes é dada por (8.6) e (8.7):

$$\frac{[AH^+]}{C_0} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K_{obs} \times [Al^{3+}]^n} \quad (8.6)$$

$$\frac{[CP]}{C_0} = \frac{K_{obs} \times [Al^{3+}]^n}{[H^+]^2 + K_{obs} \times [Al^{3+}]^n} \quad (8.7)$$

Deste modo a absorvância a um determinado comprimento de onda é dada por:

$$\frac{Abs}{C_0} = \varepsilon_{AH^+} \frac{[AH^+]}{C_0} + \varepsilon_{CP} \frac{[CP]}{C_0} \quad (8.8)$$

Na figura 8.5 encontra-se representada a variação da absorvância a 430nm de uma solução de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de alumínio (III) (0.2M e 0.02M) em função do pH, sendo o assentamento das curvas conseguido através da expressão (8.8).

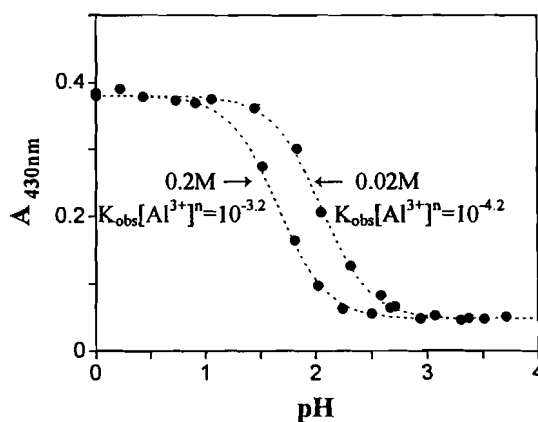
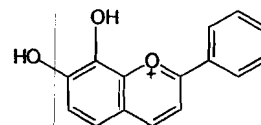


Figura 8.5- Variação da absorvância do 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio a 430nm na presença de AlCl_3 (0.2M e 0.02M) em função do pH.

Do assentamento das curvas representadas na figura 8.5 é possível extrair $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n = 10^{-3.2}$ para $[\text{Al}^{3+}] = 0.2 \text{M}$ e $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n = 10^{-4.2}$ para $[\text{Al}^{3+}] = 0.02 \text{M}$. O facto da variação de uma ordem de grandeza na concentração de alumínio (III) levar à variação de uma ordem de grandeza no valor de $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n$ mostra que o complexo tem um alumínio coordenado ($n=1$). A partir daqui facilmente se calcula $K_{\text{obs}} = 3.15 \times 10^{-3}$, de onde vem $K_{\text{cp}} = 1.99 \times 10^8$.

8.3. Cloreto de 7,8-dihidroxiavílio



8.3.1. Solução aquosa

As transformações estruturais do 7,8-dihidroxiavílio em solução aquosa na gama de pH de 0 a 5 são muito semelhantes às apresentadas pelo 7-hidroxiavílio. Em meio muito ácido a espécie predominante é o catião avílio ($\lambda_{\text{máx}}=395\text{nm}$, $\epsilon=15000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) que à medida que o pH aumenta equilibra com uma mistura de base quinoidal e chalcona *trans* com um $\text{pK}'_{\text{a}}=2.3$, ver figura 8.6.

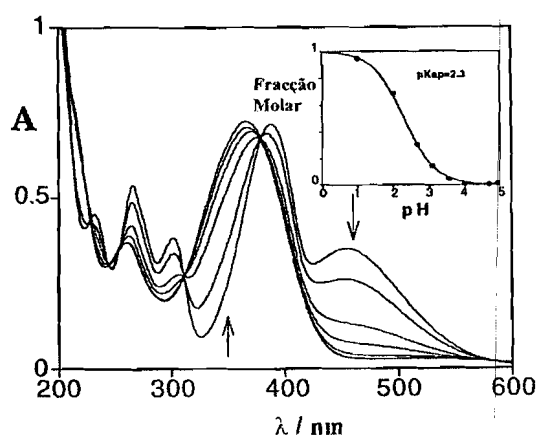


Figura 8.6- Variação dos espectros de absorvância do 7,8-dihidroxiavílio em função do pH. Na inserção encontra-se a variação da fracção molar do AH^+ com o pH.

Quando uma solução equilibrada a pH 0 é submetida a um salto para pH moderadamente ácido ou neutro, forma-se numa escala de tempo muito rápida (não detectável por técnica de fluxo interrompido) base quinoidal que posteriormente decresce equilibrando com chalcona *trans*. Na inserção da figura 8.7 está representada a variação da absorvância da base quinoidal imediatamente após um salto de pH=1 para pH=5.55, sendo visível o desaparecimento da base com uma cinética de primeira ordem. Quando são levados a cabo uma série de saltos de pH para a zona entre pH=2 e pH=6 e em cada um deles é determinada a constante de velocidade observada para a cinética de primeira

ordem com que se dá o desaparecimento da base quinoidal, é possível fazer uma representação de K_{obs} em função do pH obtendo-se um perfil em sino (figura 8.7).

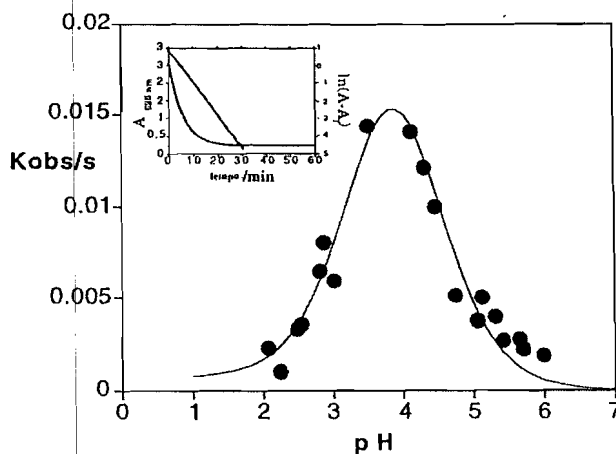


Figura 8.7– Representação da constante observada para o desaparecimento da base quinoidal após um salto de pH para a gama entre pH=2 e pH=6 em função do pH. O assentamento da curva foi feito com $k_h=2.2 \times 10^{-1} s^{-1}$, $k_{-h}=8.7 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$, $k_i=4 \times 10^{-1} s^{-1}$, $k_{-i} \approx 7 \times 10^{-4} s^{-1}$, $K_a=10^{-3.3}$. Na inserção encontra-se a variação da absorvância de A após um salto de pH=1 para pH=5.55.

O assentamento da curva em forma de sino nos pontos experimentais é conseguido através da utilização da expressão (3.17)^[52] anteriormente apresentada^Ψ no capítulo 3 :

$$k_{obs} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \times \frac{k_i \times k_h}{k_i \times k_{-h} \times [H^+]} + \frac{k_{-i} \times k_{-h} \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \quad (3.17)$$

a partir da qual é possível determinar $k_h=2.2 \times 10^{-1} s^{-1}$, $k_{-h}=8.7 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$, $k_i=4 \times 10^{-1} s^{-1}$, $k_{-i}=7 \times 10^{-3} s^{-4}$, $k_a \approx 10^{-3.3}$. Com estes valores podem calcular-se $K_h=2.3 \times 10^{-5}$, $K_i=6 \times 10^2$.

^Ψ A dedução da expressão (3.17) encontra-se no Apêndice 2.

Quando uma solução previamente equilibrada em Ct é sujeita a um salto para pH 1, observa-se uma recuperação da absorvância do AH^+ com uma cinética de primeira ordem controlada pela isomerização *cis-trans* da chalcona. Deste modo, levando a cabo saltos reversos para pH 1 de soluções contendo Ct a diversas temperaturas e para cada uma delas determinada a constante cinética observada para o aparecimento de AH^+ , é possível determinar a partir de um gráfico de Arrhenius que a energia de activação da isomerização é de 37kJmol^{-1} , ver figura 8.8.

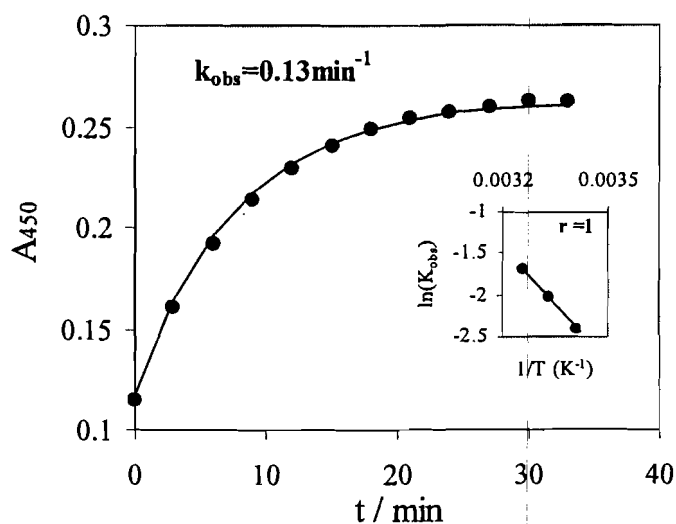


Figura 8.8- Variação da absorvância a 450nm após um salto para pH 1 de uma solução contendo Ct a 27°C. Na inserção encontra-se o gráfico de Arrhenius de onde se retira um valor de 37kJmol^{-1} para a barreira de isomerização.

Quando uma solução previamente equilibrada em Ct após um salto de pH para $\text{pH}=4.63$ é submetida a fotólise por relâmpago (figura 8.9), são visíveis dois processos consecutivos: na escala de tempo do relâmpago Ct desaparece para dar Cc e B, que desaparecem em segundos revertendo uma fracção a Ct e outra fracção formando A. Mais tarde, em minutos, a fracção de A formada origina de novo Ct.

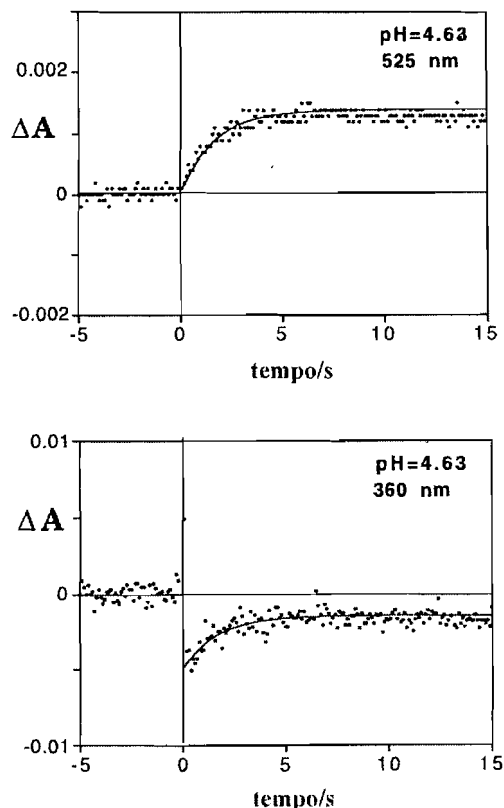


Figura 8.9– Fotólise por relâmpago a 525nm e 360nm de uma solução previamente equilibrada em Ct a pH=4.63.

Quando se segue a variação da absorvância quer a 525nm (A) quer a 360nm (Ct) é observada a mesma cinética de primeira ordem, cuja constante observada é dada por $k_{\text{obs}} = k_i + k_h[\text{H}^+]$. Esta expressão corresponde à soma das constantes dos dois processos pelos quais desaparece Cc: a isomerização que controla o regresso a Ct e a desidratação que determina a formação de AH^+ e A. Se for comparado o valor de $k_{\text{obs}} = 0.65\text{s}^{-1}$ obtido na fotólise por relâmpago a pH=4.63, com o valor $k_{\text{obs}} = k_i + k_h[\text{H}^+] = 0.6\text{s}^{-1}$ calculado com base nas constantes retiradas do assentamento da curva em forma de sino resultante dos saltos de pH, é obtida uma razoável concordância dentro do erro experimental.

8.3.2. Na presença de Al (III)

Na figura 8.10 encontram-se representados os espectros de absorção de soluções de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) equilibradas 3 dias na presença de AlCl_3 ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH. Nesta figura é possível verificar que à medida que o pH aumenta se forma uma banda de absorção a 550nm que não existe na ausência de alumínio (III). Por esta razão esta nova banda é atribuída ao complexo entre a base quinoidal ionizada e o Al (III).

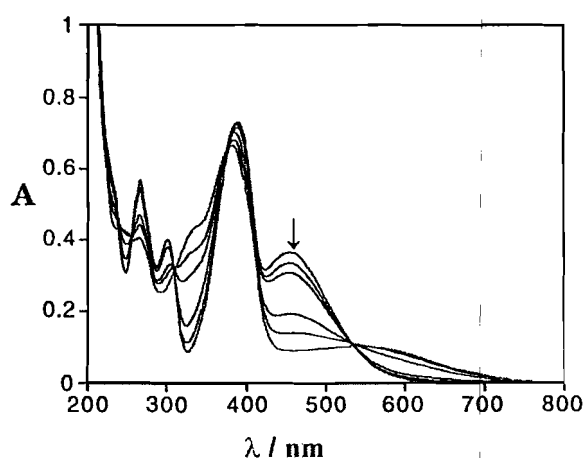


Figura 8.10- Variação dos espectros de absorção de soluções de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) equilibradas 3 dias na presença de AlCl_3 ($5 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH: 0.0, 0.22, 0.78, 0.91, 1.52, 1.81.

Deste modo, a presença de Al (III) permite estabilizar a cor azul devida à base quinoidal ionizada que de outro modo não é estável.

Na figura 8.11 encontra-se representada a variação da absorvância a 450nm de uma solução de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de alumínio (III) (0.05M e 0.01M) em função do pH, sendo o assentamento das curvas conseguido através da expressão (8.8) deduzida anteriormente para o 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio.

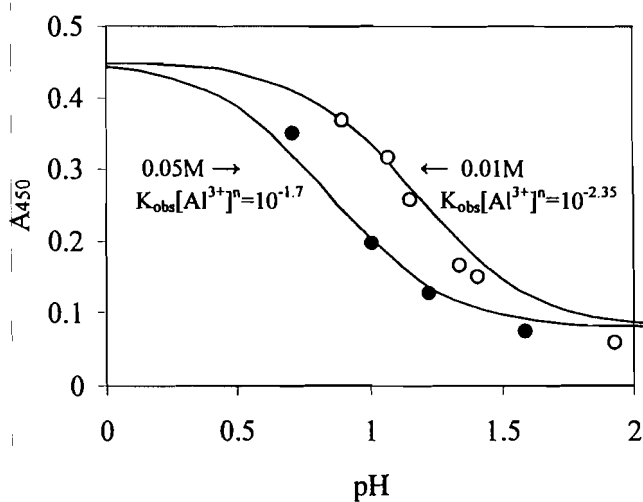
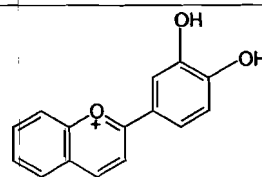


Figura 8.11- Variação da absorvância do 7,8-dihidroxi-flavílio a 450nm na presença de AlCl_3 (0,05M e 0,01M) em função do pH.

Do assentamento das curvas representadas na figura 8.10 extrai-se $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n = 0,02$ para $[\text{Al}^{3+}] = 0,05\text{M}$ e $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n = 0,0045$ para $[\text{Al}^{3+}] = 0,01\text{M}$, de onde se retira $n = 0,93$ ou seja n aproximadamente igual a 1. A partir daqui facilmente se calcula $K_{\text{obs}} = 0,4$, no entanto como apenas é conhecido $\text{p}K_{\text{a}1} = 3,3$ e não é conhecido $\text{p}K_{\text{a}2}$, não é possível determinar K_{cp} . Pode no entanto estimar-se que se $6 < \text{p}K_{\text{a}2} < 7$, então $8 \times 10^8 < K_{\text{cp}} < 8 \times 10^9$.

8.4. Perclorato de 3',4'-dihidroxiavilíio

8.4.1. Solução aquosa



Quando uma solução de perclorato de 3',4'-dihidroxiavilíio a pH 1 contendo catião avilíio ($\lambda_{\text{máx}}=455\text{nm}$, $\epsilon=11800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) é sujeita a um salto de pH para a gama de 1 a 6, verifica-se que a fracção de AH^+ decresce originando um banda de absorção a 530nm característica da base quinoidal acompanhada de outras bandas pouco intensas a menores comprimentos de onda compatíveis com hemiacetal e chalcona cis, ver figura 8.12. A razão entre a quantidade de AH^+ , A e B+Cc presentes quando é atingido um pseudo-equilíbrio após alguns minutos do salto de pH, depende do pH final da solução. A representação da variação da absorvância de AH^+ no pseudo-equilíbrio em função do pH, permite obter uma constante pK^{a} de 4.0 (inserção na figura 8.12).

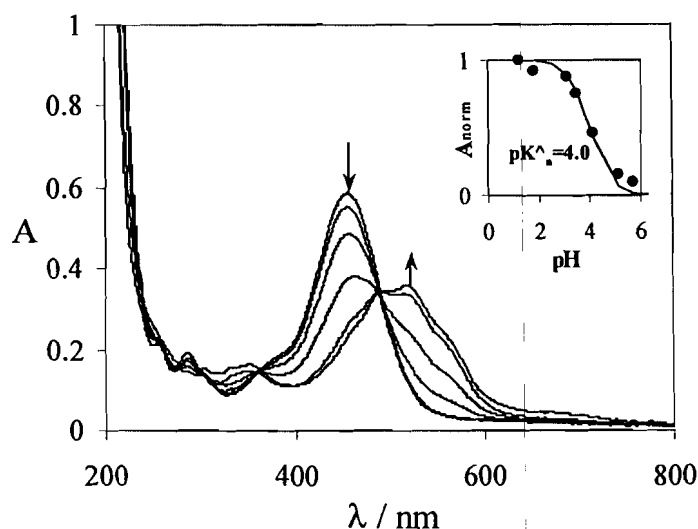


Figura 8.12 – Variação espectral 30 minutos após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 6, para o 3',4'-dihidroxiavilíio ($5 \times 10^{-5}\text{M}$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Este pseudo-equilíbrio que se atinge em poucos minutos mantém-se durante cerca de 4 horas, findas as quais começa a ser visível um decréscimo da banda de absorção de A e um aumento de intensidade das bandas a menores comprimentos de onda, compatíveis

com a formação de Ct. Esta evolução só termina ao fim de cerca de 12 dias, quando é atingido o equilíbrio termodinâmico com $pK'_a=3.3$, ver figura 8.13. Um salto reverso de uma solução equilibrada 12 dias a pH 4.98 para pH 1 não conduz a alteração visível do espectro de absorção, evidenciando que o equilíbrio termodinâmico estabelece exclusivamente entre AH^+ e Ct.

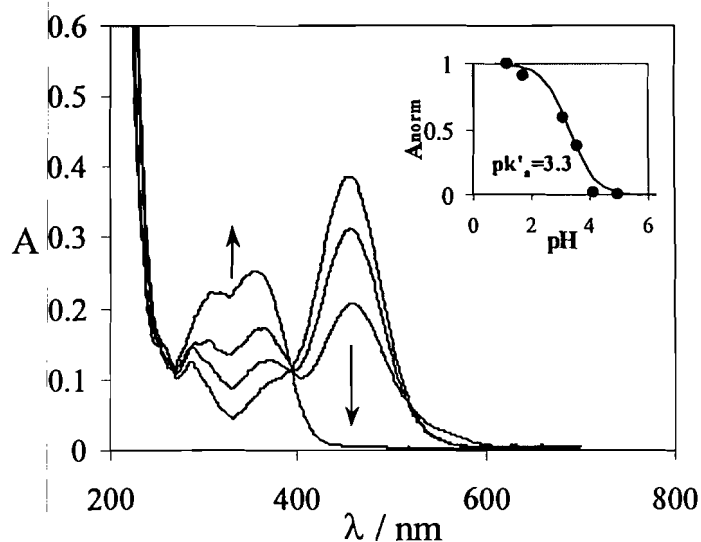


Figura 8.13- Variação espectral 10 dias após diversos saltos de pH 1 para um pH final entre 1 e 5, para o 3',4'-dihidroxiflavílio ($3 \times 10^{-5} M$). Na inserção representa-se a variação da fracção molar de AH^+ em função do pH.

Se uma solução equilibrada 12 dias no escuro contendo Ct a pH=5 for acidificada para pH=1 e for seguida a velocidade de formação de AH^+ , verifica-se que esta segue uma cinética de primeira ordem, cuja constante observada determinada a diferentes temperaturas permite através de um gráfico de Arrhenius determinar uma energia de activação de $112 kJ mol^{-1}$ para a isomerização *cis-trans* (passo determinante), ver figura 8.14.

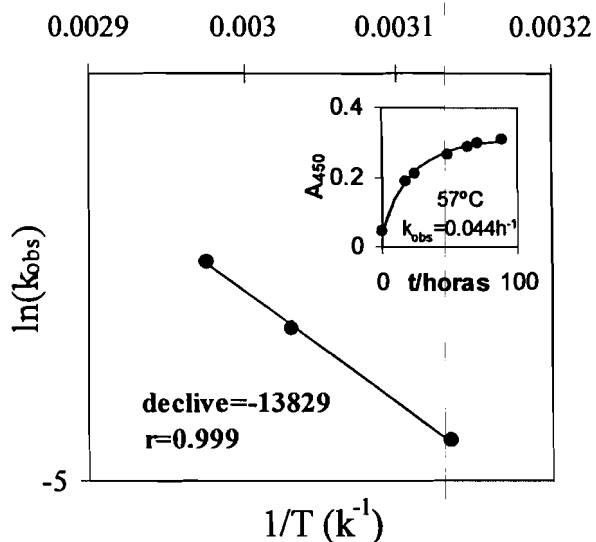


Figura 8.14 – Gráfico de Arrhenius de onde se extrai uma energia de ativação de 112 kJ mol^{-1} para a isomerização *cis-trans*. Na inserção encontra-se a variação da absorvância a 450nm em função do tempo para uma solução contendo Ct a pH 1 ($2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) a 57°C .

Do mesmo modo a irradiação contínua a 365nm de uma solução contendo Ct a pH 1 leva à recuperação de 100% de AH^+ com um rendimento quântico de 0.41, mostrando que a barreira da isomerização *cis-trans* pode ser superada fotoquimicamente, ver figura 8.15.

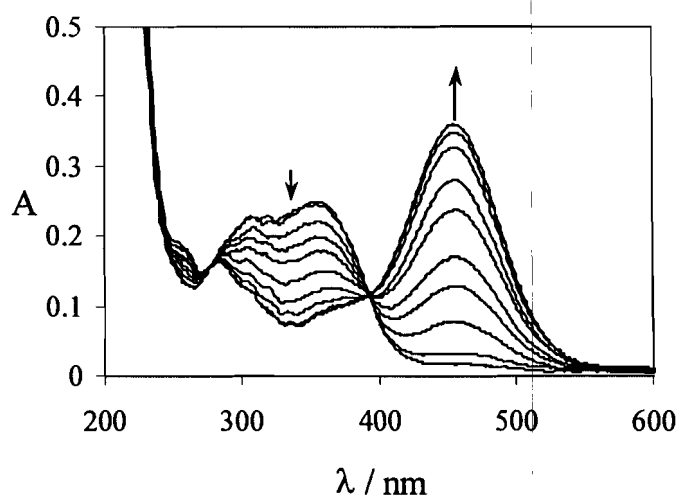


Figura 8.15 – Variação espectral após irradiação a 365nm de uma solução contendo Ct ($3 \times 10^{-5} \text{ M}$) a pH=1, tempo de irradiação 0,1, 5, 10, 15, 25, 35, 55, 85, 110 minutos.

8.4.2. Na presença de Al (III)

Na figura 8.16 encontram-se representados os espectros de absorção de soluções de 3',4'-dihidroxiavilíio ($8.3 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de um excesso 1:1000 de AlCl_3 ($8.3 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH. É possível verificar que à medida que o pH aumenta se forma uma banda de absorção a 550nm que não existe na ausência de alumínio (III), atribuível ao complexo entre a base quinoidal ionizada e o Al (III). Atendendo a que se está em presença de um largo excesso de alumínio (III), pode ser assente nos pontos experimentais a expressão (8.8) e assim extrair o valor de $K_{\text{obs}}(0.083)^n = 1.5 \times 10^{-4}$.

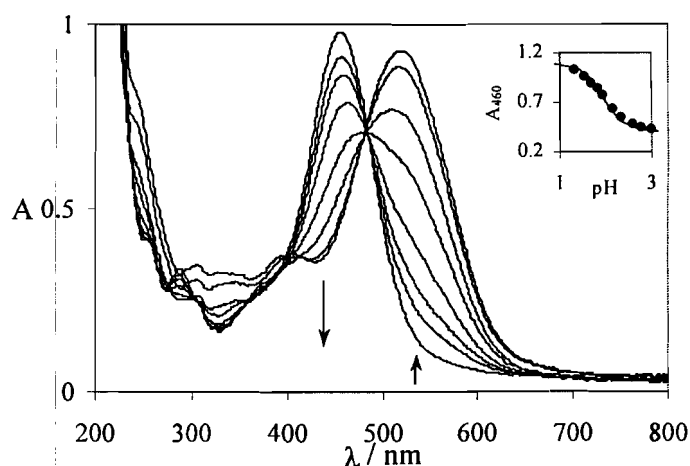


Figura 8.16- Variação dos espectros de absorção de soluções de 3',4'-dihidroxiavilíio ($8.3 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de AlCl_3 ($8.3 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH: 1.53, 1.69, 1.82, 1.96, 2.16, 2.35, 2.59, 2.79. Na inserção encontra-se a variação da absorvância a 460nm em função do pH. O assentamento nos pontos experimentais da expressão (8.8) é conseguido com $K_{\text{obs}} \times [\text{Al}^{3+}]^n = 1.5 \times 10^{-4}$.

Quando se observa a variação espectral de soluções de 3',4'-dihidroxiavilíio ($8.3 \times 10^{-5} \text{M}$) na presença de um excesso de 1:500 de AlCl_3 ($4.15 \times 10^{-2} \text{M}$) em função do pH, o assentamento nos pontos experimentais da expressão (8.8) permite extrair o valor de $K_{\text{obs}}(0.0415)^n = 3.5 \times 10^{-5}$. A partir dos valores determinados para $K_{\text{obs}}[\text{Al}^{3+}]^n$ para um excesso de AlCl_3 de 500 e de 1000 vezes, é possível calcular $K_{\text{obs}} = 2.1 \times 10^{-2}$ e $n=2$. No entanto como K_{a1} e K_{a2} não são conhecidos ainda não é possível determinar K_{cp} a partir da expressão (8.5).

Por outro lado, a adição de quantidades crescentes de alumínio (III) a uma série de soluções de 3',4'-dihidroxiavilíio ($8.3 \times 10^{-5} \text{M}$) mantendo $\text{pH}=3$, conduz a um aumento da banda de absorção a 550nm correspondente ao complexo entre a base quinoidal ionizada e o Al (III). A variação da absorvância a 550nm em função do excesso de alumínio (III) presente mostra que só é atingida a complexação máxima para uma concentração de AlCl_3 maior ou igual a 150 vezes a concentração de 3',4'-dihidroxiavilíio (figura 8.17).

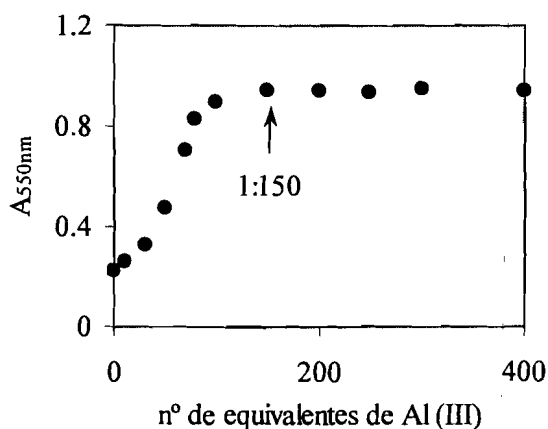


Figura 8.17- Variação da absorvância a 550nm normalizada de soluções contendo 3',4'-dihidroxiavilíio a $\text{pH}=3$ na presença de um excesso crescente de AlCl_3 .

Deste modo, para excessos de alumínio inferiores a 150 vezes a concentração de 3',4'-dihidroxiavilíio não existem em solução apenas AH^+ e complexo, sendo possível a existência de outras espécies. Nestas condições a fracção molar de AH^+ , na gama de pH de 1 a 5, é dada por:

$$\begin{aligned}
 X_{\text{AH}^+} &= \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{AH}^+] + [\text{A}] + [\text{B}] + [\text{C}] + [\text{Cl}] + [\text{Cp}]} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow X_{\text{AH}^+} &= \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{AH}^+] + \frac{K_{a1}[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]} + \frac{K_a[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]} + \frac{K_a K_i[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]} + \frac{K_a K_i K_i[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{a1} K_{a2} K_{cp}[\text{AH}^+][\text{Al}^{3+}]^n}{[\text{H}^+]^2}} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow X_{\text{AH}^+} &= \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{H}^+]^2 + K_{a1}[\text{H}^+] + K_a[\text{H}^+] + K_a K_i[\text{H}^+] + K_a K_i K_i[\text{H}^+] + K_{a1} K_{a2} K_{cp}[\text{Al}^{3+}]^n} \quad (8.9)
 \end{aligned}$$

Assumindo que imediatamente após o salto de pH a única espécie não complexada presente será A e que B e Cc que eventualmente se formem não são relevantes, pode deduzir-se que a fracção de AH^+ é dada por:

$$X_{AH^+} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K_{a1}[H^+] + K_{a1}K_{a2}K_{cp}[Al^{3+}]^n} \quad (8.10)$$

mas como $K_{obs}=K_{a1}K_{a2}K_{cp}=2.1 \times 10^{-2}$, a expressão (8.10), vem:

$$X_{AH^+} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K_{a1}[H^+] + 2.1 \times 10^{-2} [Al^{3+}]^n} \quad (8.11)$$

Fazendo uma série de saltos de pH de 1 para a gama de pH de 1 a 5 em soluções de 3',4'-dihidroxiavílio ($8.3 \times 10^{-5}M$) na presença de um excesso de 10 vezes $AlCl_3$ ($8.3 \times 10^{-4}M$) e de 100 vezes $AlCl_3$ ($8.3 \times 10^{-3}M$) em função do pH, é possível assentar a expressão (8.11) na variação experimental da fracção de AH^+ (figura 8.17) e assim confirmar que $n=2$, determinar $pK_{a1}=4.1$ (figura 8.18).

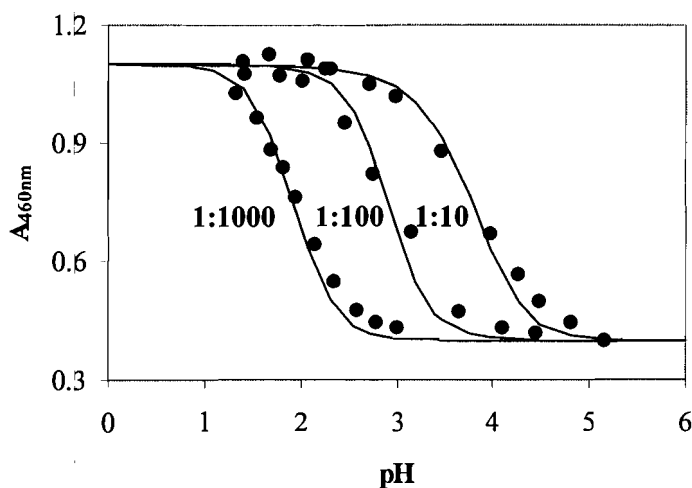


Figura 8.18- Variação da absorvância a 460nm de soluções de 3',4'-dihidroxiavílio ($8.3 \times 10^{-5}M$) na presença de um excesso de 10 vezes $AlCl_3$ ($8.3 \times 10^{-4}M$), de 100 vezes ($8.3 \times 10^{-3}M$) e de 1000 vezes ($8.3 \times 10^{-2}M$) em função do pH. O assentamento nos pontos experimentais da expressão (8.11) é conseguido com $n=2$ e $pK_{a1}=4.1$.

Sabendo que $K_{\text{obs}}=2.1 \times 10^{-2}$ e que $pK_{a1}=4.1$ determina-se $K_{\text{cp}}K_{a2}=2.64 \times 10^2$. Estimando $K_{a2}<10^{-5.5}$, é possível determinar $K_{\text{cp}}>8.36 \times 10^7$ em razoável acordo com os valores de K_{cp} da ordem de 10^8 e 10^9 obtidos nos dois casos anteriormente estudados.

8.5. Conclusões

A existência de uma unidade catecol quer no anel A (posições 7 e 8) quer no anel B (posições 3' e 4') de um sal de flavílio sintético permite a complexação de alumínio (III). Essa complexação dá-se através da ligação do metal à base quinoidal ionizada permitindo estabilizar a cor azul desta última espécie, que de outro modo é fugaz, seja devido à transformação em outras espécies termodinamicamente mais estáveis (3',4'-dihidroxi-flavílio) ou à existência de degradação (7,8-dihidroxi-4-metilflavílio). Em todos os casos é necessário um excesso de alumínio (III) relativamente ao flavílio superior a 100 vezes, sendo a constante de complexação do alumínio pela base quinoidal ionizada $K_{\text{cp}}=1.99 \times 10^8$ para o 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio, $K_{\text{cp}}>8 \times 10^8$ para o 7,8-dihidroxi-flavílio e $K_{\text{cp}}>8 \times 10^7$ para o 3',4'-dihidroxi-flavílio. Quanto à estequiometria da complexação, no caso do 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio e do 7,8-dihidroxi-flavílio é de uma molécula de flavílio para uma molécula de alumínio (III) e no caso do 3',4'-dihidroxi-flavílio é de uma molécula de flavílio para duas moléculas de alumínio. Esta última estequiometria envolvendo uma molécula de flavílio para duas moléculas de alumínio, sugere a formação de uma estrutura mais complexa envolvendo provavelmente várias moléculas de flavílio e de metal.

Capítulo 9. Copigmentação de um sal de flavílio com aniões

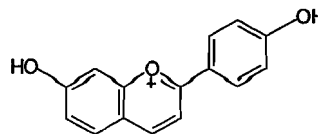
9.1.Introdução

Tal como referido na introdução do capítulo 8 o termo *copigmentação* é introduzido por Robinson^[85,86] quando estuda a reacção de antocianinas à adição de copigmentos incolores (flavonas e flavonóides). Depois do trabalho pioneiro de Robinson muitos têm sido os estudos relativos aos efeitos da copigmentação nas antocianinas, sabendo-se hoje que a copigmentação não ocorre apenas com o catião flavílio ou a base quinoidal, mas com as diversas espécies resultantes dos vários equilíbrios.^[96] Mais ainda, estudos recentes mostram que na ausência de um copigmento «clássico» se verificam ainda assim efeitos de copigmentação resultantes da interacção do catião flavílio com a chalcona *cis*, a valores de pH a que ambas as espécies coexistem.^[97]

Geralmente a estabilização da cor nas antocianinas por copigmentação é explicada assumindo que a presença do copigmento evita que em meio fracamente ácido ocorra o ataque nucleófilo da água ao catião flavílio, do qual resulta a formação de hemiacetal e chalconas incolores. Esta associação entre a antocianina e o copigmento provavelmente envolve forças de Van der Waals, no entanto o papel desempenhado por forças electrostáticas não está ainda clarificado.^[98] Estudos envolvendo a formação de pares iónicos entre o catião flavílio de antocianinas e aniões como o cloreto e o perclorato mostram que os efeitos electrostáticos estão presentes sempre que há espécies carregadas envolvidas.^[99, 100]

Neste capítulo é estudada a copigmentação por formação de par iónico do catião flavílio do 7, 4'-dihidroxiavílio com os aniões cloreto, brometo e perclorato. É ainda proposta uma metodologia simples que permite calcular a constante de copigmentação por formação de par iónico com aniões.

9.2. Cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio



9.2.1. Copigmentação com cloreto, brometo e perclorato ^[101]

Na figura 9.1 está representada a variação da absorvância a 458nm normalizada (através da expressão (9.9)) de uma solução de cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio ($2 \times 10^{-5} \text{M}$) estabilizada no escuro na presença de um largo excesso (2M) de aniões cloreto, brometo e perclorato em função do pH. É possível verificar que a presença de qualquer dos aniões provoca um desvio do pK'_a para valores mais elevados, estendendo o domínio do catião avílio até valores de pH mais elevados.

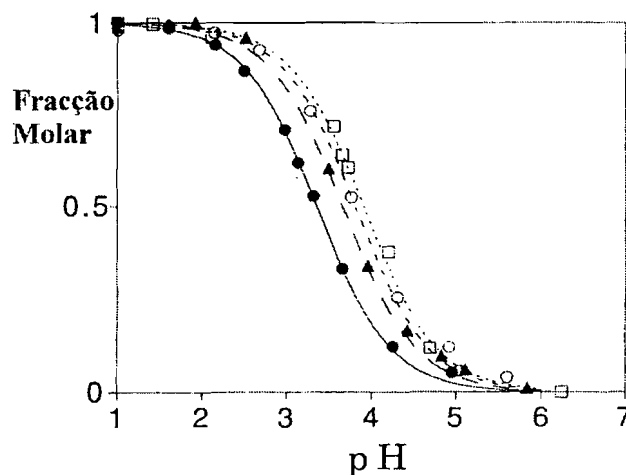
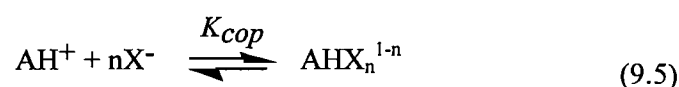
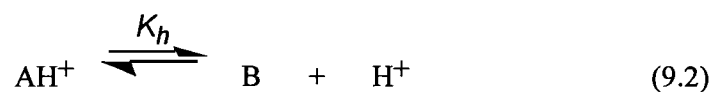
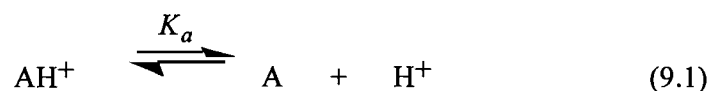


Figura 9.1- Variação da absorvância normalizada (9.9) a 458nm do cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio ($2 \times 10^{-5} \text{M}$) no equilíbrio na (●) ausência e na presença de um largo excesso (2M) de aniões (▲) cloreto, (○) brometo e (□) perclorato em função do pH.



De modo a interpretar este resultado é necessário adicionar aos vários equilíbrios em que um sal de avílio pode estar envolvido ((9.1) a (9.4)) um outro equilíbrio correspondente à existência de copigmentação (9.5)



O método clássico para calcular a constante de associação K_{cop} correspondente ao equilíbrio (9.5) é através da equação de *Benesi-Hildebrande*^[102]:

$$\frac{[X]}{\varepsilon_{obs} - \varepsilon_0} = \frac{1}{\Delta\varepsilon K_{cop}} - \frac{[X]}{\Delta\varepsilon} \quad (9.6)$$

onde $\varepsilon_{obs}=A/C_0$ é a razão da absorvância medida pela concentração de flavílio, ε_0 o coeficiente de absorvidade molar do flavílio livre, $\Delta\varepsilon$ a diferença entre os coeficientes de absorvidade molar do flavílio livre e do aducto formado, K_{cop} a constante de associação e $[X]$ a concentração variável de copigmento (em largo excesso). O uso desta equação implica que a força iónica seja mantida constante pela adição dos chamados «aniões inocentes», tipicamente do tipo dos apresentados na figura 9.1 que são neste caso o objecto de estudo. Assim, excepto se for desprezado o controlo da força iónica, a equação de

Benesi-Hildebrand tem um interesse muito limitado para estudar o efeito deste tipo de aniões.

Outro modelo matemático muito útil para calcular constantes de associação envolvendo o catião flavílio é o descrito por *Brouillard et. al.*^[103]:

$$\ln \frac{A - A_0}{A_0} = \ln \left(\frac{K_{cop} \varepsilon_{cop}}{\varepsilon_{AH^+}} \right) + n[X] \quad (9.7)$$

onde A é a absorvância após adição de um copigmento de concentração $[X]$, A_0 a absorvância na ausência de copigmento, ε_{cop} e ε_{AH^+} são os coeficientes de absortividade molar do aducto e do catião flavílio livre respectivamente, e n o número de moléculas de copigmento envolvidas no aducto com o catião flavílio. Nesta equação o valor de n pode ser directamente obtido do declive da recta resultante da representação da expressão (9.7), mas o cálculo de K_{cop} implica o conhecimento prévio dos coeficientes de absortividade molar ε_{AH^+} e ε_{cop} . Enquanto que o primeiro é facilmente calculado na ausência de copigmento, para obter o segundo é necessário considerar que todo o flavílio se encontra na forma de aducto. No entanto, quando a constante de associação é muito baixa como no caso dos aniões em causa no presente estudo ou o copigmento não é suficientemente solúvel em água, não é possível ter todo o flavílio na forma de aducto e calcular deste modo ε_{cop} . Para além desta limitação, no presente caso em que é estudada a copigmentação com aniões utilizados usualmente para manter a força iónica constante, este método apresenta o problema adicional de implicar necessariamente uma variação da força iónica, uma vez que é necessário variar a concentração do copigmento para construir a recta de onde é possível extrair K_{cop} e n .

Devido às limitações encontradas nos métodos anteriormente descritos torna-se necessário desenvolver uma aproximação alternativa para a determinação da constante de associação do catião flavílio com os aniões brometo, cloreto e perclorato.

Na ausência de copigmento a fracção molar de catião flavílio é dada por:

$$\frac{[AH^+]}{C_0} = \alpha' = \frac{[H^+]}{[H^+] + K'_a} \quad (9.8)$$

onde $K'_a = K_a + K_h + K_h K_t + K_h K_t K_i$.

Na prática, para ser possível o assentamento da expressão anterior nos pontos experimentais é necessário proceder à prévia normalização destes pontos através da aplicação da expressão:

$$\alpha' = \frac{\frac{A'}{A'_0} - C}{1 - C} \quad (9.9)$$

onde A' é a absorvância a um determinado comprimento de onda (dependente do pH), A'_0 a absorvância a um pH suficientemente ácido para que o catião flavílio seja a única espécie em solução, C uma constante determinada experimentalmente como a razão A'/A'_0 a um pH suficientemente alto a que não exista catião flavílio em solução.

A partir do assentamento da expressão (9.8) nos pontos experimentais obtidos na ausência de aniões normalizados através da expressão (9.9), é possível determinar a constante pK'_a apresentada na tabela 9.1.

Na presença de um copigmento a fracção molar de catião flavílio é dada por:

$$\begin{aligned}
\frac{[AH^+]}{C_0} &= \frac{[AH^+]}{[AH^+] + [A] + [B] + [Cc] + [Cl] + [AHX_n^{1-n}]} \Leftrightarrow \\
\Leftrightarrow \frac{[AH^+]}{C_0} &= \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a + K_h + K_h K_i + K_h K_i K_i + K_{cop} [X]^n [H^+]} \Leftrightarrow \\
\Leftrightarrow \frac{[AH^+]}{C_0} &= \frac{[H^+]}{(1 + K_{cop} [X]^n) [H^+] + K'_a} = \frac{[H^+]}{[H^+] + \frac{K'_a}{1 + K_{cop} [X]^n}} \times \frac{1}{1 + K_{cop} [X]^n} \Leftrightarrow \\
\Leftrightarrow \frac{[AH^+]}{C_0} &= \frac{1}{1 + K_{cop} [X]^n} \times \alpha_{ap} \quad (9.10)
\end{aligned}$$

A expressão (9.10) é constituída por um pre-factor dependente da constante de copigmentação multiplicado por uma função alfa semelhante à obtida na expressão (9.8), onde K'_a é substituído por uma constante aparente K_{ap} :

$$K_{ap} = \frac{K'_a}{1 + K_{cop} [X]^n} \quad (9.11)$$

De modo análogo se obtém para a fracção molar de aducto:

$$\frac{[AHX_n^{1-n}]}{C_0} = \frac{K_{cop} [X]^n}{1 + K_{cop} [X]^n} \times \alpha_{ap} \quad (9.12)$$

A partir do assentamento da expressão (9.10) nos pontos experimentais obtidos na presença de um largo excesso constante de anião (copigmento) normalizados através da expressão (9.9), é possível determinar a constante K_{ap} . No entanto para a partir de K_{ap} calcular K_{cop} é necessário conhecer n . Para determinar n pode ser usada a equação de Brouillard's eq.(9.7), uma vez que este valor é retirado directamente do declive da recta

dispensando o cálculo de ϵ_{cop} . Procedendo deste modo com os valores experimentais apresentados na figura 9.1 é possível calcular as constantes de copigmentação K_{cop} apresentadas na tabela 9.1

Tabela 9.1				
	H ₂ O	Cl ⁻	Br ⁻	ClO ₄ ⁻
pK' _a	3.05	-	-	-
pK _{ap}	-	3.60	3.75	3.80
K _{cop}	-	1.7	2.0	2.4

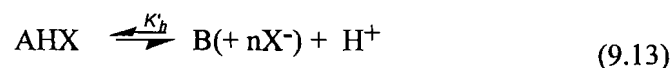
Os valores baixos obtidos para K_{cop} mostram que não é possível chegar a uma situação em que todo o catião flavílio esteja associado ao anião, uma vez que esta implicava a presença dos aniões numa concentração muito superior aos seus limites de solubilidade. Esta impossibilidade de ter o catião flavílio na totalidade sob a forma de aducto mostra que a equação de Brouillard's ou qualquer outro método que implique a determinação de ϵ_{cp} , não pode ser usada no caso de copigmentação por formação de par iónico.

Podem neste caso ser utilizados o método de Benesi-Hildebrand ou o método anteriormente deduzido, desde que $K_{\text{cop}}[X] > 1$ para garantir a existência de sensibilidade.^[101] No entanto, enquanto que no método anteriormente deduzido as medidas podem ser feitas nas melhores condições com uma elevada concentração de anião, no método de Benesi-Hildebrand a concentração de anião deve compreender valores mais baixos.^[101] Para além disso no método anteriormente descrito K_{ap} é determinado a força iónica constante proveniente da concentração constante de anião, o que se torna bastante importante uma vez que noutros casos a força iónica é mantida constante pela adição dos chamados iões inocentes, precisamente aqueles cujos efeitos de copigmentação são estudados neste capítulo.

A fraqueza do presente método prende-se com o cálculo de K'_a , que é determinado na ausência de anião ou na presença de uma concentração de anião inferior a 0.05M e portanto a baixa força iónica comparativamente com a determinação de K_{ap} . Alternativamente pode ser calculado K_{ap} e portanto K_{cp} a concentrações de anião baixas, mas nesse caso há uma perda de sensibilidade como facilmente se verifica por observação da equação (9.10).

9.2.2. Copigmentação *versus* protecção da hidratação

Quando existe copigmentação usualmente considera-se que o catião flavílio se encontra na forma de complexo e por isso a reacção de hidratação não tem lugar.^[47] Consequentemente, para estudar a copigmentação, apenas se torna necessário ter em conta os equilíbrios (9.1) a (9.5). No entanto, no caso de copigmentação por formação de par iónico, a presença de aniões em volta do carbono 2 pode dificultar a hidratação mas dificilmente a impedirá por completo. Assim, é necessário adicionar mais um equilíbrio possível correspondente à hidratação do catião flavílio envolvido no aducto aos anteriores:



Considerando então todos os equilíbrios possíveis, pK_{ap} é neste caso dado por :

$$K_{ap} = \frac{K'_a + (K'_h - K_h)\gamma}{1 + K_{cp}[\text{X}]^n} = \frac{K'_a}{1 + K_{cp}[\text{X}]^n} + \frac{(K'_h - K_h)\gamma}{[1 + K_{cp}[\text{X}]^n]} \quad (9.14)$$

onde γ é a fracção de catião flavílio complexado.

O primeiro termo da expressão (9.14) é devido à complexação e o segundo termo provém de ser possível a hidratação do aducto, pelo que no caso de ser desprezada a existência deste segundo termo a constante calculada será menor que o seu valor real. Por

esta razão as constantes anteriormente calculadas (tabela 9.1) serão na verdade o limite inferior para a constante de copigmentação por formação de par iônico.

Quando são levadas a cabo fotólises por relâmpago com soluções de flavílio equilibradas na presença um largo excesso de aniões a diversos valores de pH (figura 9.2), é possível determinar os valores de k_i e de k_h apresentados na tabela 9.2

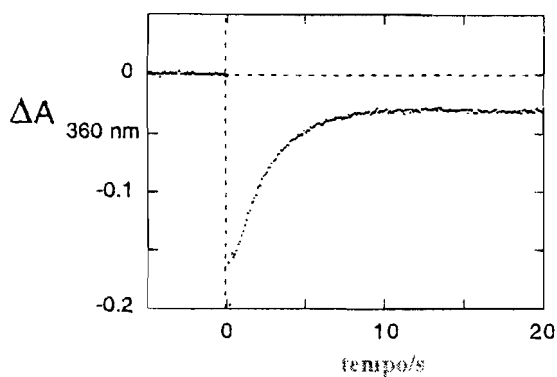


Figura 9.2- Fotólise por relâmpago de uma solução de 7,4'-dihidroxiavilíio equilibrada na presença de $[Cl^-]=2M$ a $pH=5.6$ seguida a $360nm$ ($K_{obs}=0.36s^{-1}$).

Tabela 9.2		
	$k_i (s^{-1})$	$k_h (s^{-1}M^{-1})$
Ausência de aniões	1.3×10^4	0.26
Presença de Cl^- (2M)	3.5×10^4	0.45

Comparando os resultados obtidos na ausência e na presença de Cl^- (2M) verifica-se que as constantes de velocidade obtidas para a isomerização e para a desidratação não variam muito, permanecendo quase dentro do erro experimental da técnica, sendo difícil assumir a ausência de hidratação no aducto.

Os efeitos de copigmentação visíveis na figura 9.1, podem ser explicados se a formação do par iônico diminuir a energia do aducto relativamente ao catião flavílio, permitindo estender o seu domínio a pH menos ácido. No entanto como as constantes de

copigmentação são bastante baixas, o decréscimo do nível energético do aducto relativamente ao catião flavílio é pequeno e por isso o aumento provocado na energia de activação da hidratação não é relevante.

9.3. Conclusões

Apesar da copigmentação por formação de par iónico com aniões ditos inocentes ser geralmente negligenciada, esta existe e é relevante quando se medem constantes de copigmentação a elevadas forças iónicas obtidas por adição destes mesmos aniões. A copigmentação por formação de par iónico do catião flavílio com aniões cloreto, brometo e perclorato leva a que o domínio do aducto se estenda até pH menos ácido do que o do catião flavílio isolado. No entanto não existe evidência experimental para concluir que o aducto não sofre hidratação uma vez que as constantes de velocidade obtidas na presença de um largo excesso de anião não variam substancialmente quando comparadas com as obtidas na ausência de anião. Assim, o aumento do domínio do aducto até valores de pH menos ácidos deve-se provavelmente a uma diminuição do seu nível energético relativamente ao do catião flavílio. No entanto este decréscimo do nível energético será pequeno, provocando por isso um aumento também pequeno na energia de activação da hidratação.

Ao menos o trabalho dele tem um sentido. Quando acende um candeeiro, é como se fizesse nascer mais uma estrela. Ou então mais uma flor. Quando apaga o candeeiro, é o mesmo que pôr a flor ou a estrela a dormir. É uma ocupação muito bonita. E porque é bonita, é útil.

Antoine de Saint-Exupéry, *O Príncipezinho*

Considerações finais

Os estudos levados a cabo durante esta tese têm por objectivo uma caracterização global da família dos sais de flavílio sintéticos, começando com os métodos de síntese, passando pela influência dos substituintes nas transformações estruturais apresentadas, e terminando com o comportamento de flavílios em presença de micelas, metais ou aniões em solução.

No Capítulo 1 são apresentados métodos gerais de síntese de sais de flavílio e descritas pormenorizadamente as sínteses que permitiram aceder aos sais de flavílio estudados ao longo desta tese.

No Capítulo 2 são estudados flavílios substituídos com um grupo metilo na posição 4, observando-se que estes apenas apresentam catião flavílio e base quinoidal em meio ácido e neutro. A pH mais elevado observa-se o aparecimento das bases quinoidais ionizadas quando o número de hidroxilos o permite, mas não se detectam formas ionizadas de outras espécies. Assim conclui-se que a substituição na posição 4 dificulta ou mesmo impede a hidratação que conduz ao hemiacetal e posteriormente às chalconas.

No Capítulo 3 são estudados flavílios com um grupo metilo na posição 3, observando-se uma instabilização do catião flavílio face às restantes espécies que se reflecte num aumento do K'_a . Este facto provavelmente é devido à elevada proximidade do grupo metilo na posição 3 ao hidrogénio na posição 2' (6') dificultar a coplanaridade

entre os anéis B e C que apresentam um ângulo de torção de cerca de 40°, diminuindo a deslocalização da carga positiva do catião. Para além disso o 3-metilflavílio em meio ácido ou neutro não apresenta quer chalcona *cis* quer chalcona *trans* no equilíbrio, que se estabelece exclusivamente entre o catião flavílio e o hemiacetal, não sendo possível a partir deste obter chalconas termica ou fotoquimicamente. A introdução de outros substituintes para além do grupo metilo na posição 3 afecta o equilíbrio termodinâmico, que passa a estabelecer-se o entre o catião flavílio e uma mistura de hemiacetal e chalcona *cis* ou mesmo chalcona *trans*, no entanto esta última em fracções sempre inferiores às obtidas para os análogos não substituídos na posição 3.

No Capítulo 4 são estudados sais de flavílio substituídos no anel B (posições 3' ou 4'), concluindo-se que a pH moderadamente ácido ou neutro estes apresentam chalcona *trans* como forma maioritária ou única no equilíbrio. Apesar da chalcona *trans* ser a espécie maioritária no equilíbrio final, a isomerização *cis-trans* que antecede a sua formação é em geral o processo mais lento (horas a semanas) dos envolvidos nas transformações estruturais que se dão quando AH^+ é colocado a um pH fracamente ácido ou neutro onde já não é a espécie termodinamicamente mais estável. Este facto leva a que seja estabelecido numa escala de tempo muito menor (minutos a horas) um primeiro pseudo-equilíbrio entre AH^+ e A, B e Cc, que ao longo do tempo evolui para o equilíbrio final com Ct. A extrema lentidão da isomerização nestes compostos prende-se com a existência de uma barreira cinética, cuja intensidade varia com a natureza dos substituintes, que separa as espécies Cc e Ct.

Nos sais de flavílio substituídos exclusivamente no anel B, a existência de chalcona *trans* como forma maioritária no equilíbrio aliada à existência de uma considerável barreira cinética de isomerização permite através de ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* projectar modelos de dispositivos de memória óptica a nível molecular,

construindo sistemas de armazenamento de informação múltiplos e com capacidade de leitura não destrutiva.

No Capítulo 5 são estudados sais de flavílio substituídos com um grupo hidroxilo na posição 6 ou 7 do anel A, concluindo-se que estes apresentam chalcona *trans* como forma maioritária ou única no equilíbrio, à semelhança do que acontece no flavílio não substituído ou substituído no anel B. No entanto, observa-se que a substituição de um grupo hidroxilo na posição 7, ao contrário da posição 6, leva a que o processo mais lento que antecede a formação de chalcona *trans* a partir de catião flavílio não seja a isomerização *cis-trans* e sim a hidratação. Por este motivo, nestes compostos não se estabelece um primeiro pseudo-equilíbrio entre AH^+ e A, B e Cc, uma vez que assim que se forma Cc esta não se acumula sendo imediatamente transformada em Ct. Para além disso, nos flavílios substituídos com um hidroxilo na posição 7 a barreira de isomerização *cis-trans* torna-se negligenciável, retornando Ct a 100% de AH^+ ao fim de minutos a horas a pH ácido, impossibilitando o uso destes compostos em ciclos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*.

No Capítulo 6 é estudado o efeito da substituição em diferentes posições do flavílio na intensidade da barreira de isomerização e ao mesmo tempo na alteração do espectro de 1H RMN apresentado pela chalcona *trans*. Daí se conclui que mesmo quando estão presentes mais que um substituinte doador, o decréscimo da barreira pode ser avaliado pelo desvio químico dos protões 6,8 e o acréscimo pelo desvio químico dos protões 3',5'. Mais ainda, que a energia da barreira de activação da isomerização *cis-trans* pode ser correlacionada quantitativamente com os desvios químicos dos protões 3',5' e 6,8 através de uma equação simples. Por fim é aplicada esta equação aos flavílios estudados, concluindo-se que existe uma razoável correlação entre os valores previstos e os valores experimentais calculados para a barreira de isomerização.

No Capítulo 7 é estudado o comportamento de sais de flavílio na presença de micelas carregadas positivamente, negativamente ou neutras. Conclui-se que a presença de micelas afecta tanto a nível termodinâmico como cinético os processos envolvidos nos equilíbrios apresentados pelos flavílios em solução aquosa. De um modo geral, micelas carregadas negativamente (SDS) conduzem a desvios positivos do pK dos equilíbrios ácido-base que se estabelecem entre o AH^+ e as espécies neutras e micelas carregadas positivamente (CTAB) conduzem a desvios negativos desse mesmo pK. Estas alterações permitem utilizar a adição de micelas como um novo estímulo quer na construção de ciclos alternativos de *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, quer na execução de funções lógicas.

No Capítulo 8 são estudados sais de flavílio contendo uma unidade catecol, concluindo-se que estes possuem capacidade de complexar alumínio (III). Essa complexação dá-se através da ligação do metal (num excesso superior a 100 vezes) à base quinoidal ionizada, com constantes de complexação da ordem de 10^8 - 10^9 , permitindo estabilizar a cor azul desta última espécie.

No Capítulo 9 é estudada a copigmentação de sais de flavílio por formação de par iónico com aniões ditos inocentes, observando-se que a associação do catião flavílio com aniões cloreto, brometo e perclorato leva a que o domínio do aducto se estenda até pH menos ácido do que o do catião flavílio isolado. No entanto não é encontrada evidência experimental para concluir que o aducto não sofre hidratação, justificando-se este aumento do domínio do aducto com uma diminuição do seu nível energético relativamente ao do catião flavílio.

Uma sùmula de vários parâmetros relevantes determinados para os sais de flavílio sintéticos estudados ao longo desta dissertação é apresentada no apêndice 3.

Parte experimental:

1. Aparelhagem

1.1. Espectrofotómetro

Os espectros de absorção foram obtidos num espectrofotómetro Perkin-Elmer, Lambda 6. A temperatura no porta-células é usualmente cerca de 2°C superior à temperatura exterior que foi mantida a $20\pm 2^\circ\text{C}$. Foram utilizadas células de quartzo da marca Hellma com 1cm de percurso óptico.

1.2. Espectrofluorímetro

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos num espectrofluorímetro SPEX Fluorolog F111. O aparelho possui no seu software unidades de correcção para a intensidade da lâmpada (Xenon, 150W, OF) e para a resposta do fotomultiplicador. As fendas mais utilizadas foram as de 1.25mm (4.5nm) e a geometria adoptada foi sempre a de ângulo recto. A temperatura exterior foi mantida a $20\pm 2^\circ\text{C}$. Foram utilizadas células de quartzo da marca Hellma com 1cm de percurso óptico.

1.3. Potenciómetro

As leituras de pH foram efectuadas num potenciómetro Metrohm 713 com eléctrodos de vidro combinados, de 3 ou 6cm de diâmetro, das marcas Schott, Metrohm ou Ingold. No caso das experiências de RMN foi usado um eléctrodo combinado de 3.7mm de diâmetro e 180mm de comprimento, da marca Russel.

1.4. Lâmpadas de irradiação e filtros

Foram utilizados três tipos de lâmpadas de irradiação: i) lâmpada de mercúrio de média pressão de 50 ou de 100W, controlada por uma unidade LPS-220 da Photon Thecnology International Inc. (Inglaterra), arrefecida a água, com uma intensidade de feixe luminoso de cerca de 1.5×10^{-6} einstein/min a 366nm, ii) lâmpada de mercúrio de média pressão (Müller TYP SVX 1530) da Müller Elektronik Optic (Alemanha), arrefecida a ar, com uma intensidade de feixe luminoso de cerca de 3.1×10^{-7} einstein/min a 436nm e iii) lâmpada de mercúrio de média pressão GR. E. 125W da Helios Italquartz (Itália), arrefecida a ar, com uma intensidade de feixe luminoso de cerca de 7.2×10^{-7} einstein/min a 313nm.

Os filtros usados para isolar as riscas pretendidas do espectro de emissão do mercúrio foram os seguintes: i) um filtro de interferência Oriel P/N 56430 no caso da risca a 366nm, ii) um filtro de interferência Oriel P/N 56450 no caso da risca a 436nm e iii) um filtro de interferência Oriel P/N 56410 ou um filtro químico (solução de dicromato de potássio pH=13, NaOH), de menor largura de banda que o anterior, no caso da risca a 313nm.

1.5. Aparato de fotólise por relâmpago

As experiências de fotólises por relâmpago foram levadas a cabo utilizando um espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 6 com um compartimento de amostra modificado. Essa modificação consiste na abertura de uma fenda de 5mm de largura e 20mm de altura no lado exterior do suporte da célula, de modo a ser possível excitar a amostra perpendicularmente ao feixe de luz analisador do espectrofotômetro. Para além disso foi utilizada para isolar o compartimento da amostra da luz exterior, bem como evitar que a luz do relâmpago atinja os detectores do aparelho, uma tampa negra contendo apenas uma

abertura do mesmo tamanho da fenda anteriormente descrita e na direcção desta. Como fonte de luz foi utilizado um «auto-flash» Achiever 630AF de uma máquina fotográfica.

1.6. Banho termostaticado

O banho utilizado para termostatar as experiências foi um Frigiterm 6000382 da marca Selecta (-10 a 100°C), com precisão até às décimas de grau.

1.7. Balança

A balança utilizada foi uma Sartorius Research R200D de 5 casas decimais e com ± 0.01 mg de precisão.

1.8. Cromatógrafo líquido de alta resolução (HPLC)

O cromatógrafo utilizado, da Merk-Hitachi, permite trabalhar com gradientes de eluição de fluxo e temperatura variável. Consiste numa Intelligent Pump L-6200A da Merk-Hitachi com uma válvula de injeção Rheodyne 7125 de 20 μ L de capacidade. O efluente é seguido por meio de um detector Diode Array U.V.-Vis. L-4500 da Merk-Hitachi. A interface de ligação ao computador é uma D-6000 Merk-Hitachi.

Para introduzir a amostra no injector foi utilizada uma seringa Hamilton de 100 μ L

1.9. Cromatografia em camada fina

As cromatografias analíticas em camada fina (ccf) usadas para seguir as reacções, foram efectuadas em placas de suporte de alumínio Merck 60 F₂₅₄. As manchas foram detectadas por observação sob irradiação UV (254 e 366nm) e/ou revelação com iodo.

1.10. Espectrómetro de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de protão foram efectuados num espectrómetro Bruker ARX-400 (400MHz). Os deslocamentos químicos (δ) expressos em ppm, foram de um modo geral medidos em relação ao pico residual do solvente (D_2O).

1.11. Medidor de ponto de fusão

Os pontos de fusão (não corrigidos) foram determinados num aparelho Electrothermal modelo IA 6304.

1.12. Análise elementar

A determinação das percentagens de C, H e N foi feita num analisador modelo VarioEL da marca Elementar. O método analítico baseia-se na combustão da amostra com formação de óxidos de azoto, dióxido de carbono, água e dióxido de enxofre. Os gases resultantes são separados por colunas de adsorção, com excepção dos óxidos de azoto que são conduzidos directamente ao detector TCD. Há um só detector e os componentes são analisados pela desadsorção sequencial dos gases de cada uma das colunas.

2. Metodologia

2.1. Síntese de sais de flavílio

Os sais de flavílio estudados nesta tese foram sintetizados por diversos métodos, estando a síntese de cada um deles descrita pormenorizadamente no Capítulo 1.

Com base na estratégia sintética descrita por Bullöw e Wagner^[5], foram obtidos três compostos substituídos na posição 4: cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio, cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio e cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio.

Com base na estratégia sintética descrita por Michaelis e Wizinger^[30], foram obtidos diversos compostos: cloreto de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio, cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio, cloreto de 7,4'-dihidroxi-3-metilflavílio, perclorato de 4'-metoxiflavílio, perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxiflavílio, perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxiflavílio.

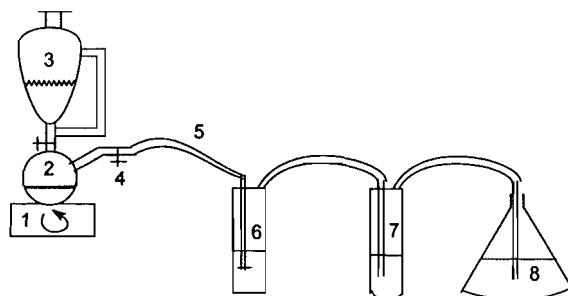
Com base na estratégia sintética descrita por Katrizky *et al.*^[34] foi obtida a maioria dos compostos: tetrafluorborato de 3-metilflavílio, perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio, tetrafluorborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio, perclorato de 4'-hidroxiflavílio, perclorato de 4'-metilflavílio, tetrafluorborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio, tetrafluorborato de 3'-hidroxiflavílio, tetrafluorborato de 4'butil-7-hidroxiflavílio, perclorato de 3',4'-dihidroxiflavílio

A estratégia sintética utilizada por Johnson e Melhuish,^[32] foi usada apenas para a síntese do cloreto de 7,8-dihidroxiflavílio

Os perclorato de flavílio, cloreto de 6-hidroxiflavílio, cloreto de 7-hidroxiflavílio e o cloreto de 7,4'-dihidroxiflavílio, já se encontravam previamente sintetizados.

2.2. Produção de ácido clorídrico *in situ*

A produção de ácido clorídrico *in situ* foi efectuada de acordo com a seguinte montagem:



1-Placa de agitação magnética

2-Balão de 2 tubuladuras contendo 30g de NH_4Cl (s) (com agitação)

3-Ampola isobárica de 250ml contendo 100ml de H_2SO_4

4-take-off

5-Tubos de ligação para gases

6-Borbulhador de placa porosa contendo 100ml de H_2SO_4

7-Borbulhador contendo a mistura reaccional

8-Armadilha para HCl , contendo NaOH e fenolftaleína

Lentamente o H_2SO_4 existente na ampola isobárica (3) é adicionado gota a gota ao NH_4Cl (30g) contido no balão de duas tubuladuras (2) e mantida agitação. Desta reacção resulta HCl (g) que através do tubo de ligação para gases é conduzido ao borbulhador de placa porosa (6) contendo H_2SO_4 onde é lavado e posteriormente conduzido ao borbulhador contendo a mistura reaccional (7). No final da montagem existe uma armadilha (8) para capturar o HCl que sai do vaso reaccional. O fluxo de H_2SO_4 adicionado é ajustado de modo a manter um fluxo de HCl constante.

2.3. Preparação de soluções

De um modo geral todos os compostos estudados foram pesados directamente num copo de precipitação previamente lavado com acetona, água destilada e por fim seco. Foram depois dissolvidos em HCl 0.1M em água bi-destilada desionizada e transferidos para um balão volumétrico previamente lavado e seco. A respectiva solução aquosa mãe foi obtida aferindo o balão ao traço. Em alguns casos, de modo a manter o sal de flavílio na forma catiónica, os compostos foram dissolvidos em HCl 1M ou 10M em água bi-destilada e desionizada.

2.4. Concentrações

No caso das soluções de sais de flavílio sintéticos estudadas por U.V.-Vis, as concentrações variaram consoante a absorvidade molar do composto no seu máximo de absorção, tendo sido tentado de um modo geral obter absorvâncias da ordem de 1. Deste modo as concentrações variaram entre 10^{-5} M e 10^{-4} M.

No caso das soluções de sais de flavílio sintéticos estudadas por espectrofluorimetria, as concentrações variaram consoante a intensidade de emissão do composto, tendo-se partido de um modo geral de soluções com absorvâncias no comprimento de onda de excitação da ordem de 0.2. Deste modo as concentrações variaram entre 10^{-6} M e 10^{-5} M.

No caso da espectrometria de ressonância magnética nuclear, as concentrações das soluções de sais de flavílio em D₂O variaram consoante a solubilidade do composto, tendo na maioria dos casos sido de cerca de 10^{-2} M a 10^{-3} M.

2.5. Titulações espectrofotométricas

As soluções foram acidificadas e basificadas utilizando HCl e NaOH respectivamente. As soluções quer de ácido quer de base tinham concentrações variáveis entre 10^{-2} M e 10M.

Antes de cada titulação o potenciómetro foi sempre calibrado com duas soluções tampão da Metrohm (pH=4 e pH=7).

No caso de titulações em contínuo a solução a titular foi mantida num copo de precipitação com uma barra magnética de agitação e o eléctrodo combinado mergulhado. A agitação foi mantida constante durante toda a titulação. Com uma micropipeta Gilson a base ou o ácido foram adicionados e após cerca de 1min do pH estabilizar, uma porção da solução era retirada para a célula de absorção e/ou fluorescência onde se fazia a leitura da absorção/emissão. Este procedimento foi repetido até ao fim da titulação e os volumes de base ou ácido adicionados anotados de modo a permitir uma posterior correcção para a diluição.

No caso de titulações em «batch» foram preparadas séries de balões volumétricos de 10ml contendo um determinado volume de solução mãe do sal de flavílio adequado à diluição, 0.5ml de tampão universal, quantidades de ácido ou base necessárias para obter o pH final desejado e água a perfazer o volume. Após a preparação das soluções foram traçados os espectros de absorção (ou emissão) da solução contida em cada um dos balões a diferente pH. Este procedimento foi repetido para diversos tempos de estabilização e os valores de pH das várias soluções confirmado de cada uma das vezes.

2.6. Saltos de pH

No caso de saltos de pH de 1 para um valor superior, o pH final das soluções foi garantido pela adição de um volume determinado de uma solução aquosa contendo base (NaOH) suficiente para neutralizar a acidez da amostra e uma quantidade de tampão ao pH final desejado. No final de cada salto, o pH foi medido num potenciómetro Metrohm. No caso de saltos reversos de pH de valores elevados para 1, o pH final das soluções foi obtido pela adição directa de um volume calculado de ácido concentrado (HCl).

A mistura da amostra e da solução contendo ácido ou base foi feita na própria célula o mais rapidamente possível, e imediatamente colocada no espectrofotómetro para proceder ao início das leituras de absorvância.

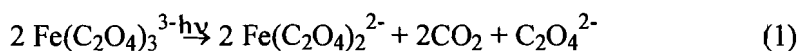
2.7. Fotólise por relâmpago

As experiências de fotólise por relâmpago incidiram geralmente em soluções equilibradas na forma de *trans*-chalcona. O procedimento foi de dois tipos: i) irradiação de uma solução contendo *trans*-chalcona a um pH onde esta exista juntamente com outras espécies no pseudo-equilíbrio e ii) irradiação de uma solução contendo *trans*-chalcona a um pH suficientemente baixo para que esta não exista no pseudo-equilíbrio. Assim, a reacção à irradiação da *trans*-chalcona foi seguida no primeiro caso (i) ao comprimento de onda máximo de absorção a própria *trans*-chalcona e ao comprimento de onda máximo de absorção da nova espécie formada, enquanto que no segundo caso (ii) apenas foi seguida ao comprimento de onda máximo de absorção da nova espécie formada, usualmente catião flavílio.

2.8. Actinómetros

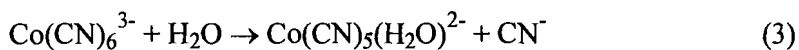
As intensidades de luz incidente foram determinadas através do actinómetro de ferrioxalato de potássio ^[104-106] ou do actinómetro baseado no rendimento quântico de fotoaquação do hexacianocobaltato (III) de potássio ($\phi = 0.30$ em solução aquosa com pH na gama de 1.2 a 5).^[107] Durante as actinometrias foram sempre utilizadas células de volume igual ao usado nas irradiações das amostras e as soluções foram sempre sujeitas a agitação magnética.

O actinómetro de ferrioxalato de potássio baseia-se nas seguintes reacções:



O ferroxalato produzido é lábil, permitindo a detecção do Fe(II) por complexação com fenantrolina (phen), através da formação do complexo $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$ que apresenta um máximo de absorção a 510nm. O procedimento experimental para este actinómetro foi retirado de Calvert e Pitts,^[105] onde os cálculos estão descritos detalhadamente.

O actinómetro baseado no rendimento quântico de fotoaquação do hexacianocobaltato (III) de potássio baseia-se na seguinte reacção, de rendimento quântico conhecido:^[107]



A sua utilização implica apenas a preparação de uma solução ácida, de volume conhecido, com pH entre 1.2 e 5.0 contendo $\text{K}_3[\text{Co}(\text{CN})_6] \cong 10^{-2}\text{M}$ ($A_{313} > 2$). Esta solução é então irradiada 313nm seguindo-se a reacção pela absorvância a 380nm.

A expressão usada para a obter o valor da intensidade luminosa I_0 , é a seguinte:

$$I_0 = (\Delta A_{380\text{corr}} / \Delta t) \times (V / \Phi \Delta \epsilon) \quad (4)$$

Onde V é o volume da célula irradiada em dm^3 , Φ o rendimento quântico da reacção

(3) ($\Phi = 0.30$ em solução aquosa com pH na gama 1.2 – 5.0), $\Delta \epsilon = \epsilon_{380} [\text{Co}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})^{2-}] -$

$\epsilon_{380} [\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}] = 280 - 10 = 270 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3$ e $\Delta A_{380\text{corr}} / \Delta t$ é obtido como o declive da recta da absorvância média corrigida a 380nm, em função do tempo (min).

2.9. Rendimentos quânticos

A determinação dos rendimentos quânticos foi efectuada procedendo à irradiação por curtos intervalos de tempo de 3 ml da solução em questão numa célula perfeitamente agitada. A intensidade luminosa da luz utilizada foi determinada através da actinometria descrita em 2.8. O rendimento quântico foi determinado utilizando a expressão:

$$\Phi = \frac{\frac{\Delta A}{\Delta \epsilon} \times \text{volume}}{I_0 \times (1 - 10^{-A_i}) \times t} \quad (5)$$

onde ΔA é a variação da absorvância ao comprimento de onda em questão durante a irradiação, $\Delta \epsilon$ é a variação das absorvidades molares das espécies intervenientes ao mesmo comprimento de onda em $\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, *volume* é o volume de solução irradiada em litros, I_0 é a intensidade luminosa da lâmpada utilizada em einstein min^{-1} , A_i é a absorvância inicial ao comprimento de onda em questão e t o tempo de irradiação em minutos.

2.10. Soluções com tensioactivos

Foram usados como tensioactivos o dodecilsulfato de sódio (SDS), o brometo de cetiltrimetilamónio (CTAB) e o polioxietileno(10)-isooctilfeniléter (triton X-100). Para cada um deles foram usadas concentrações superiores à sua concentração micelar crítica (cmc) de modo a garantir a formação de micelas. Assim as concentrações utilizadas foram superiores a 10^{-2} M , 10^{-3} M e $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$, valores das concentrações micelares críticas em água pura do SDS, CTAB e Triton X respectivamente.

2.11. Grau de pureza dos solventes e compostos

Os reagentes orgânicos usados na síntese de sais de flavílio eram de origem comercial diversa, com o mais elevado grau de pureza disponível.

Os sais de flavílio sintéticos utilizados foram todos sintetizados e purificados por recristalização conforme descrito no Capítulo 1, tendo sido a sua pureza confirmada primeiro por cromatografia em camada fina e depois por ressonância magnética nuclear de próton.

A água normalmente utilizada para fazer soluções era bi-destilada e desionizada numa aparelhagem Millipore Simplicity.

O grau de pureza de todos os compostos inorgânicos utilizados foi pro-análise, tendo estes sido usados sem qualquer purificação prévia.

Todos os solventes orgânicos utilizados foram de grau espectroscópico ou próprio para cromatografia: Spectranal da Riedel-de Haën, Uvasol e Chromasolv da Merck. Os solventes utilizados na eluição em HPLC foram passados através de um filtro de 0.2µm de poro (Nalgene) e desgaseificados em banho de ultra-sons.

2.12. Ácidos, bases e tampões

As soluções de trabalho foram acidificadas e basificadas utilizando ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) respectivamente. As soluções quer de ácido quer de base tinham concentrações variáveis entre 10^{-2} M e 10M.

Os tampões utilizados foram: i) tampão acetato [xml ácido acético (CH_3COOH) 0.2M + yml acetato de sódio (NaCH_3COO) 0.2M], ii) tampão carbonato [xml carbonato de sódio anidro (NaCO_3) 0.2M + yml bicarbonato de sódio (Na_2CO_3) 0.2M] e iii) tampão universal de Theorell e Stenhagen.^[108]

2.13. Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC)

A cromatografia líquida de alta resolução das amostras de sais de flavílio foi sempre efectuada à temperatura ambiente, com um fluxo de 1.5ml/min, segundo o seguinte gradiente de eluição:

tempo/min	0	2	8	25	27	29	40
% HClO ₄ (pH=1.5)	93	93	85	25	20	0	0
%MeOH	7	7	15	75	80	100	100

Bibliografia

- [1] A. Picon, *Les dix livres d'architecture de Vitruve*, Bibliothèque de l'Image **1995**, Livre VII Cap. XIV.
- [2] L. Colombo, *I Colori degli Antichi*, Nardini Editore **1995**, pag.171-173.
- [3] R. Willstätter, A. E. Everest, *Justus liebig's Ann. Chem*, **1913**, *401*, 189.
- [4] R. Willstätter, et al, *Justus liebig's Ann. Chem*, **1915**, *408*, 1.
- [5] C. Bulow, H. Wagner, *Ber. Dtsh. Chem. Ges.*, **1901**, *34*, 1782.
- [6] R. Robinson, D. D. Pratt, *J. Chem. Soc.*, **1922**, 1577.
- [7] R. Robinson, A. Robertson, *J. Chem. Soc.*, **1926**, 1713.
- [8] L. Iurd, *J. Org. Chem.*, **1963**, *28*, 987.
- [9] L. Iurd, U.S. **3**, **266,903**, 16 Aug.1966, Appl. 25 Jan. 1963.
- [10] C. F. Timberlake, P. Bridle, *Chem. Ind.*, **1968**, 1489.
- [11] C. F. Timberlake, *Ger., Offen.* **1**, **904, 810**, 2 Oct. 1969, Brit. Appl. 2 Feb. 1968.
- [12] J. R. Brouillard, J. E. Dubois, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 1359.
- [13] R. A. McClelland, S. Gedge, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 5838.
- [14] J. M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and perspectives*; VCH: Weinheim, **1995**.
- [15] L. B. Feringa, W. F. Jager, B. de Lange, *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 8267.
- [16] V. Balzani, F. Scandola, *Supramolecular Photochemistry*, Ellis Horwood: Chichester, **1991**.
- [17] A. Credi, V. balzani, S. J. Langford, F. J. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 2679.
- [18] M. Hanazawa, R. sumiya, Y. Horikawa, M. Irie, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 206.
- [19] T. Saika, M. Irie, T. J. Shimidzu, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 2123.

- [20] S. H. Kawai, S. L. Gilat, R. Posinet, J.M. Lehn, *Chem. Eur. J.*, **1995**, *1*, 285.
- [21] F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, R. Ballardini, V. Balzani, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 5556.
- [22] F. Pina, A. Roque, M. J. Melo, M. Maestri, L. Belladelli, V. Balzani, *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, 1182.
- [23] F. Pina, M. Maestri, V. Balzani, *Chem. Commun.*, **1999**, 107.
- [24] *New Scientist*, 19 Jul 1997.
- [25] J. B. Harborne, R. J. Grayer, *The Flavonoids, advances in research since 1980*, ed. J. B. Harborne, Chapman and Hall, London, **1988**.
- [26] A. Bonati, A. Lietti, U.S. **4,376,781**, 15 Mar. 1983, Appl. 27 Feb. 1978.
- [27] N. J. Miller, *Natural antioxidants and food quality in atherosclerosis and cancer prevention*, ed. J. Kumpulainen, J. T. Salonen, The Royal society of Chemistry, **1988**.
- [28] A. Sarma, R. Sharma, *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 1313.
- [29] R. Willstatter, L. Zechmeister, W. Kindler, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1924**, *5*, 1938.
- [30] Ch. Michaelis, R. Wizinger, *Helv. Chim. Acta*, **1951**, *34*, 1761.
- [31] G. Iacobucci, J. G. Sweeny, *Tetrahedron*, **1983**, *39*, 3005.
- [32] A. W. Johnson, R. R. Melhuish, *J. Chem. Soc.*, **1947**, 346.
- [33] J. G. Sweeny, G. Iacobucci, *Tetrahedron*, **1977**, *33*, 2927.
- [34] A. Katrizky, P. Czerney, J. Levell, W. Du, *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 2623.
- [35] R. Brouillard, G. A. Iacobucci, J. G. Sweeny, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 7585.
- [36] J. Sweeny, G. A. Iacobucci, *J. Agric. Food Chem.*, **1983**, *31*, 531.
- [37] J. Baranac, D. Amic, *J. Serb. Chem. Soc.*, **1985**, *50*, 299.
- [38] G. Mazza, J. R. Brouillard, *J. Agric. Food Chem.*, **1987**, *35*, 422.
- [39] J. Baranac, D. Amic, V. Vukadinovic, *J. Agric. Food Chem.*, **1990**, *38*, 932.
- [40] D. Amic, J. Baranac, V. Vukadinovic, *J. Agric. Food Chem.*, **1990**, *38*, 936.

-
- [41] D. Amic, A. Juric, N. Tinajstic, *Croatia Chemica Acta*, **1990**, *63*, 19.
- [42] D. Amic, N. Tinajstic, *Croatia Chemica Acta*, **1994**, *67*, 163.
- [43] F. Pina, M. J. Melo, H. Santos, J. C. Lima, I. Abreu, R. Ballardini, M. Maestri, *New J. Chem.*, **1998**, 1093.
- [44] F. Pina, L. Benedito, M. J. Melo, A. J. Parola, J. C. Lima, A. Maçanita, *Anales de química Int. Ed.*, **1997**, *93*, 111.
- [45] C. F. Timberlake, P. Bridle, *Nature*, **1965**, *212*, 158.
- [46] P. Furtado, P. Figueiredo, H. C. Neves, F. Pina, *J. Photochem. Photobiol. A.*, **1993**, *75*, 113.
- [47] H. Santos, D. Turner, J. C. Lima, P. Figueiredo, F. Pina, A. Maçanita, *Phytochemistry*, **1993**, *33*, 1227.
- [48] F. Pina, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1998**, *94*, 2109.
- [49] F. Pina, L. Benedito, M. J. Melo, A. J. Parola, A. Bernardo, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1996**, *92*, 1693.
- [50] D. Devine, R. McClelland, *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*, 5656.
- [51] A. Covington, M. Paabo, R. Robinson, R. Bates, *Anal. Chem.*, **1968**, *40*, 700.
- [52] F. Pina, M. J. Melo, R. Ballardini, L. Flamigni, M. Maestri, *New J. Chem.*, **1997**, *21*, 969.
- [53] L. F. Lindoy, *Nature.*, **1993**, *364*, 17.
- [54] A. P. de Siva, H. Q. N. Gunaratne, C. P. McCoy, *Nature.*, **1993**, *364*, 42.
- [55] F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, P. Passaniti, N. Camaioni, V. Balzani, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 3199.
- [56] M. Maestri, F. Pina, A. Roque, P. Passaniti, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2000**, *137*, 21.
-

- [57] F. Pina, M. J. Melo, A. J. Parola, M. Maestri, V. Balzani, *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, 2001.
- [58] R. McClelland, G. McGall, *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 3730.
- [59] M. Maestri, R. Ballardini, F. Pina, M. J. Melo, *J. Chem. Ed.*, **1997**, *74*, 1314.
- [60] S. Pine, J. Hendrickson, D. Cram, G. Hammond, *Organic Chemistry*, McGrawHill, **1980**.
- [61] P. Figueiredo, J. C. Lima, H. Santos, M-C. Wigand, R. Brouillard, A. Maçanita, F. Pina, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 1249.
- [62] M. Garcia-Viloca, A. González-Lafont, J. M. Lluch, *Org. Lett.*, **2001**, *4*, 589.
- [63] V. Gil, C. Geraldes, *Ressonância Magnética Nuclear*, Fundação Calouste Gulbenkian, **1987**.
- [64] R. Lutz, R. Jordan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, *72*, 4090.
- [65] Y. Moroi, *Micelles: Theoretical and Applied Aspects*, Kluwer Academic Publishers, **1992**.
- [66] J. H. Fendler. *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*, Academic Press, New York, **1975**.
- [67] F. Grieser, C. Drummond, *J. Phys. Chem.*, **1988**, *92*, 5580.
- [68] M. Fernández, P. Fromherz, *J. Phys. Chem.*, **1977**, *31*, 1755.
- [69] K. Ashby, K. Das, J. Petrich, *Anal. Chem.*, **1997**, *69*, 1925.
- [70] R. Bissel, A. Bryan, A. P. de Silva, C. McCoy, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 405.
- [71] E. Fanghaenel, S. Willscher, W. Ortmann, *J. Prakt. Chem.*, **1989**, *331*, 2195.
- [72] A. P. de Silva, I. Dixon, H. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, P. Maxwell, T. Rice, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 1393.
- [73] A. Credi, V. Balzani, S. Langford, J. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 2679.

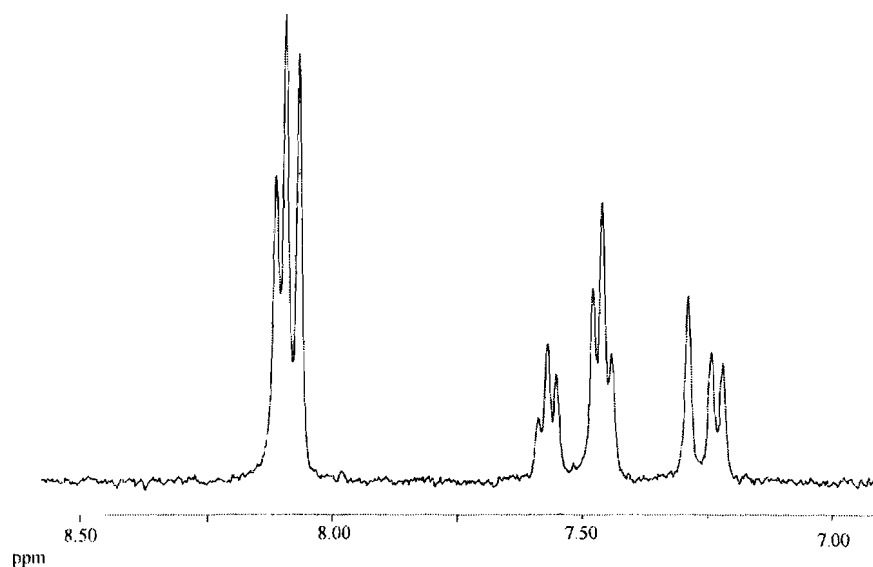
- [74] F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, P. Passaniti, V. Balzani, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 4496.
- [75] A. P. de Silva, N. McClenaghan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3965.
- [76] A. Roque, F. Pina, S. Alves, R. Ballardini, M. Maestri, V. Balzani, *J. Mat. Chem.*, **1999**, *9*, 2265.
- [77] ABRF-The Association of Biomolecular Resource Facilities, Table of Detergents, <http://www.abrf.org/ABRFNews/1997/December1997/dec97Table.html>.
- [78] C. Harris, B. Selinger, *J. Phys. Chem.*, **1980**, *84*, 891.
- [79] C. Harris, B. Selinger, *J. Phys. Chem.*, **1980**, *84*, 1366.
- [80] A. Weller, *Zeitschrift für Elektrochemie.*, **1952**, *56*, 662.
- [81] H. Beens, K. H. Grellmann, M. Gurr, A. Weller, *Discussions of the Faraday Society.*, **1965**, *39*, 183.
- [82] A. Weller, *Progress in Reaction Kinetics*, vol. I, Porter Ed., **1961**, pág. 189.
- [83] F. Pina, M. J. Melo, S. Alves, R. Ballardini, M. Maestri, P. Passaniti, *New J. Chem.*, **2001**, 747.
- [84] K. Shibata, Y. Shibata, I. Kasiwagi, *J. Am Chem. Soc.*, **1919**, 208.
- [85] R. Robinson, G. Robinson, *Biochem. J.*, **1931**, *25*, 1687.
- [86] R. Robinson, G. Robinson, *J. Am Chem. Soc.*, **1939**, 1605.
- [87] L. Iurd, S. Asen, *Phytochem.*, **1966**, *5*, 1263.
- [88] L. Iurd, S. Asen, *Phytochem.*, **1967**, *6*, 577.
- [89] S. Asen, R. Stewart, K. Norris, *Phytochem.*, **1972**, *11*, 1139.
- [90] T. Goto, T. Kondo, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, 17.
- [91] S. Dubey, R. Mehrotra, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1964**, *26*, 1543.
- [92] B. Voirin, *Phytochem.*, **1983**, *22*, 2107.
- [93] B. Segal, E. Oranescu, *Chem. Abstracts*, **1980**, 93:166297x.

- [94] D. Veselinovic, J. Baranac, Z. Zujovic, D. Djordjevic, *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, *40*, 2337.
- [95] M. Elhabiri, P. Figueiredo, K. Toki, N. Saito, R. Brouillard, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1997**, 355.
- [96] F. Pina, *J. Photochem. Photobiology A: Chem.*, **1998**, *117*, 51.
- [97] C. Houbiers, J. C. Lima, A. L. Maçanita, H. Santos, *J. Phys. Chem.*, **1998**, *102*, 3578.
- [98] O. Dangles, R. Brouillard, *Can. J. Chem.*, **1992**, *70*, 2174.
- [99] P. Figueiredo, F. Pina, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 775.
- [100] H. Liao, Y. Cai, E. Haslam, *J. Sci. Food. Agr.*, **1992**, *59*, 299.
- [101] F. Pina, A. Roque, *J. Photochem. Photobiology A: Chem.*, **1998**, *114*, 59.
- [102] H. A. Benesi, J. Hl,3. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 2703.
- [103] R. Brouillard, G. Mazza, Z. Saad, A.M. Albrecht-Gary, A. Cheminat, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 2604.
- [104] C. G. Hatchard, C. A. Parker, *Proc. R. soc. (London), Ser. A*, **1956**, *235*, 518.
- [105] J. G. Calvert, J. N. Pitts, *Photochemistry*, Wiley, London, **1966**, 783.
- [106] W. Bowman, J. Demas, *J. Phys. Chem.*, **1976**, *80*, 2434.
- [107] F. Pina, L. Moggi, M. Manfrin, V. Balzani, M. Hosseini, J. M. Lehn, *Gazz. Chim. Ital.*, **1989**, *119*, 65.
- [108] Küster-Thiel, *Tabelle per le analisi chimiche e chimico-fisiche*, Ulrico Hoepli Editore, Milano, **1985**.

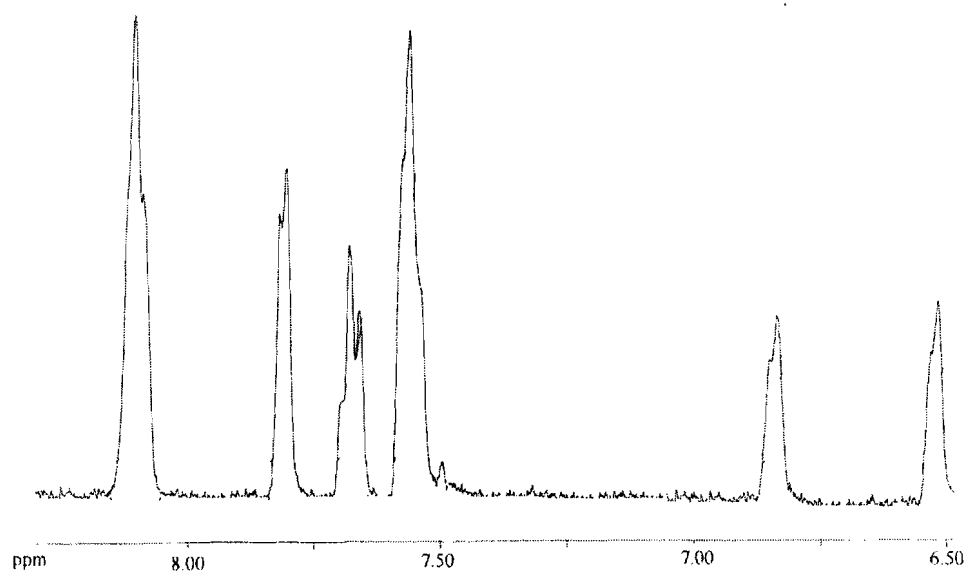
Apêndice 1

A.1. Espectros de ^1H RMN dos cátions flavílio estudados no Capítulo 1.*

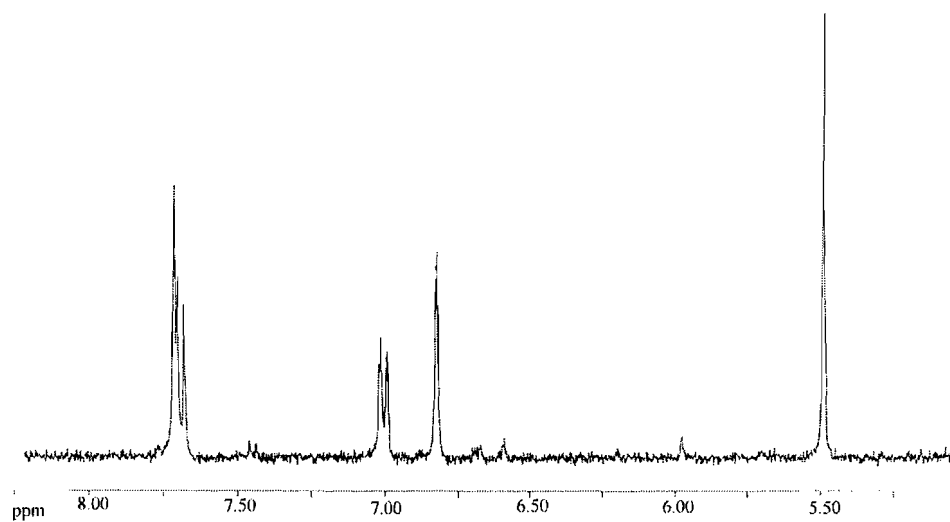
A.1.1. Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio



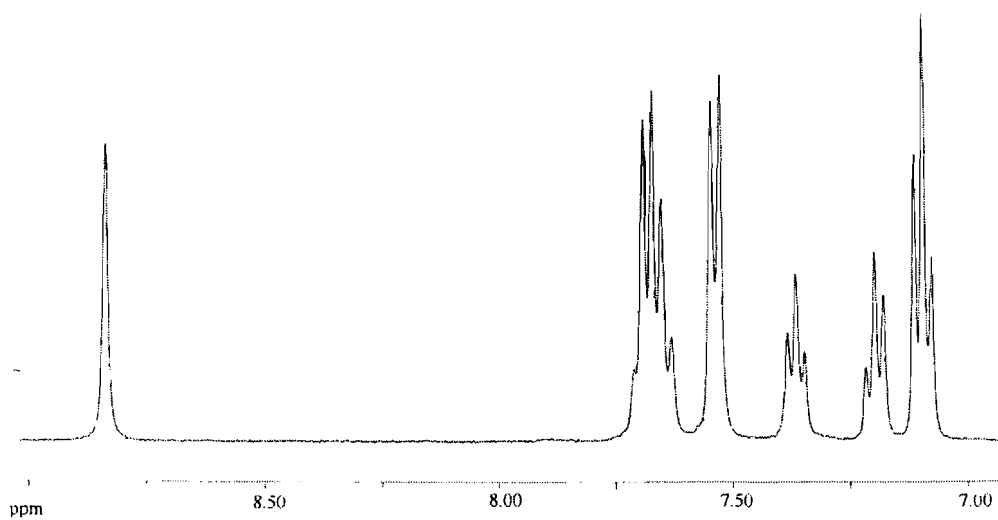
A.1.2. Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio

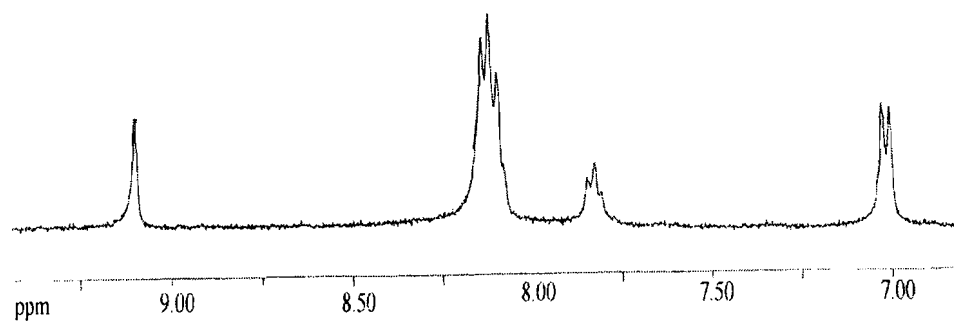
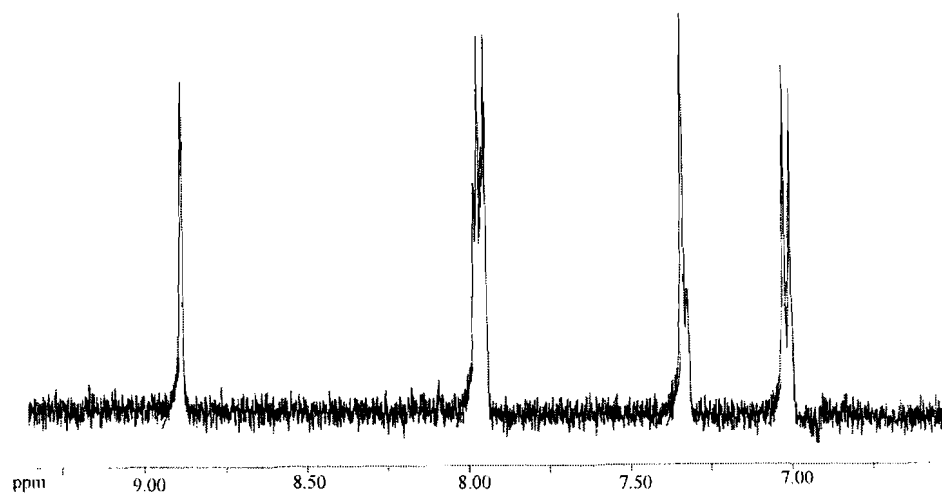


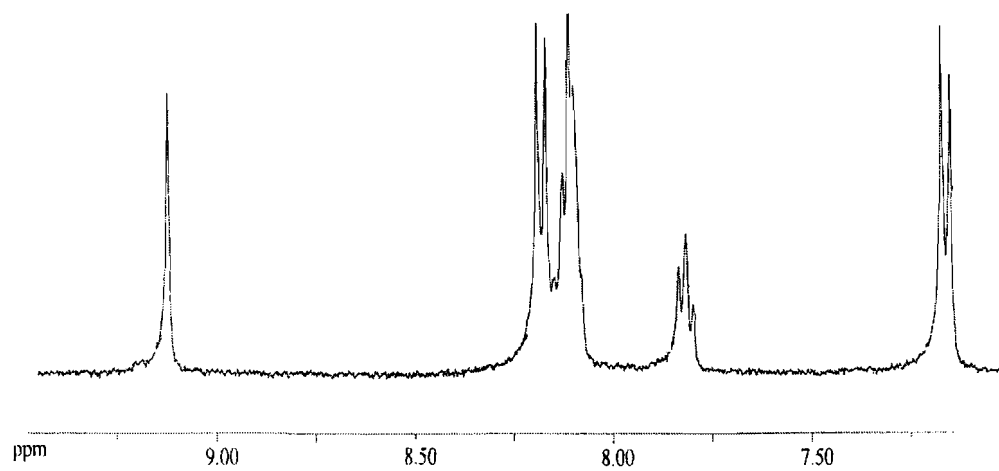
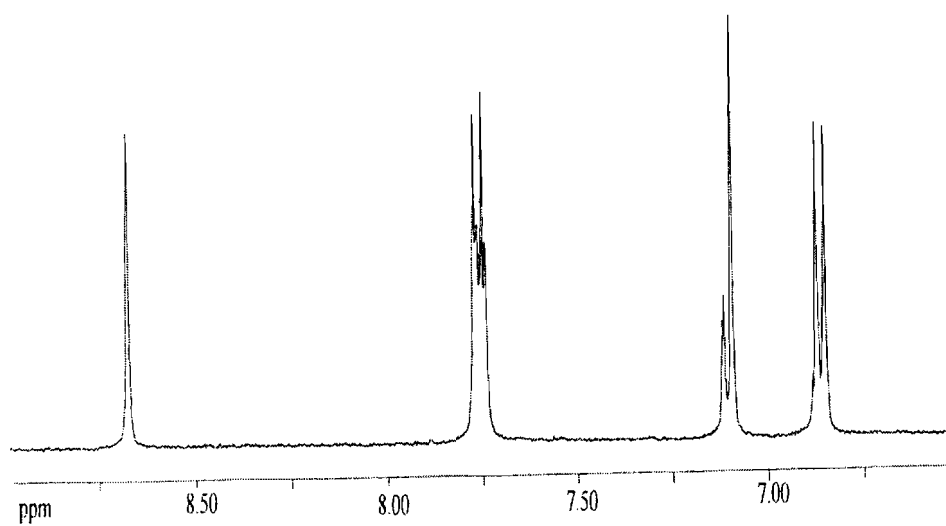
* Os espectros apresentados dizem respeito apenas à região aromática, visto os picos da zona alifática (quando existem) não apresentarem dificuldade na atribuição.

A.1.3. Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio

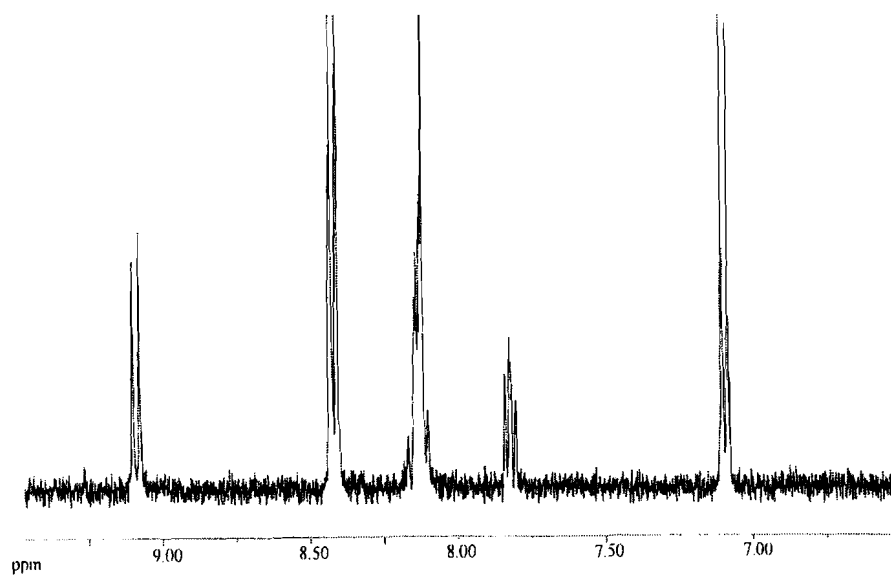
~

A.1.4. Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio

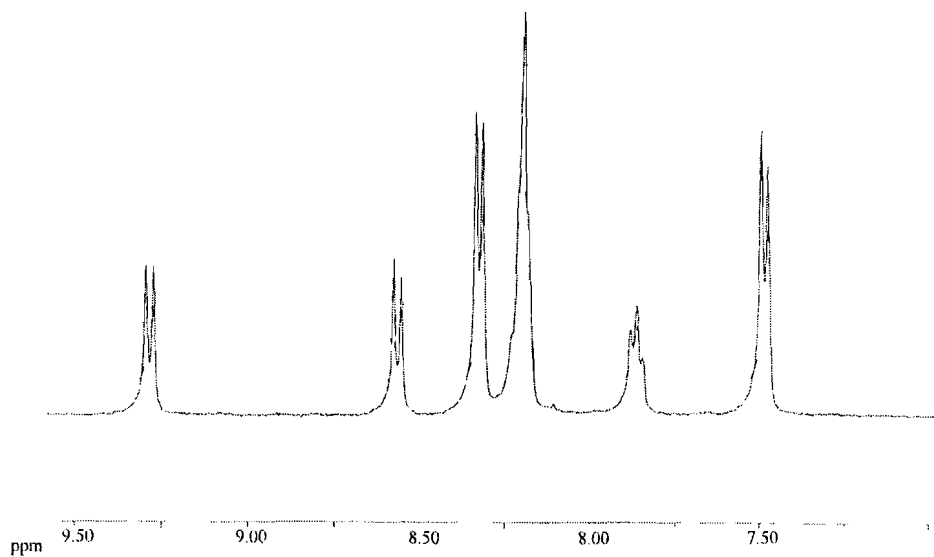
A.1.5. Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio**A.1.6. Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio**

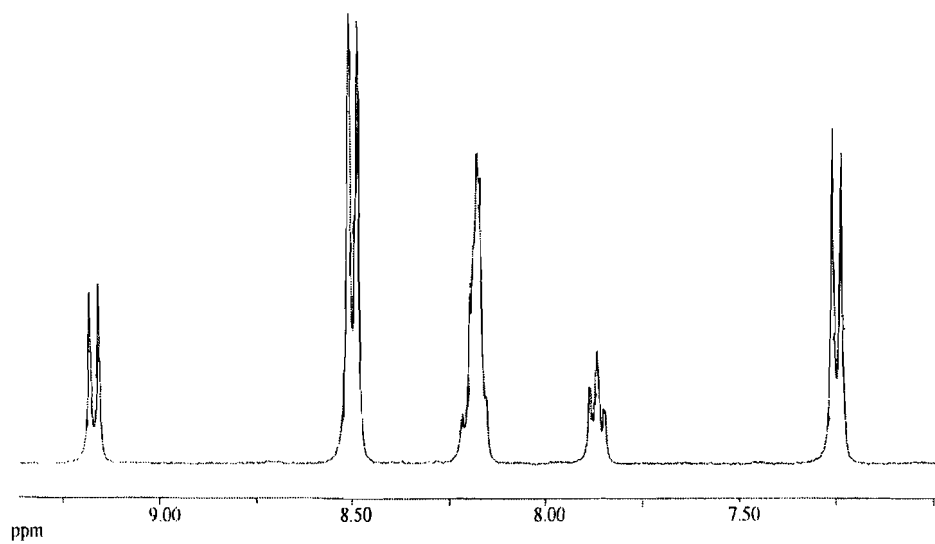
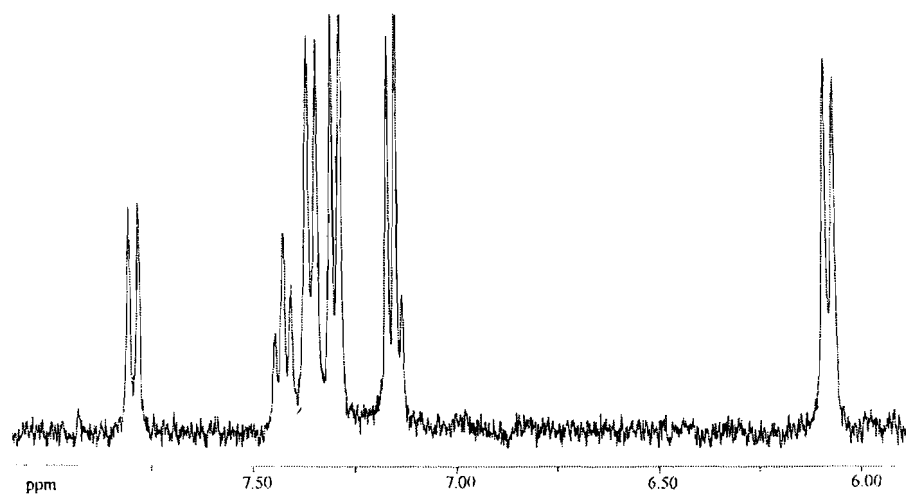
A.1.7. Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio**A.1.8. Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio**

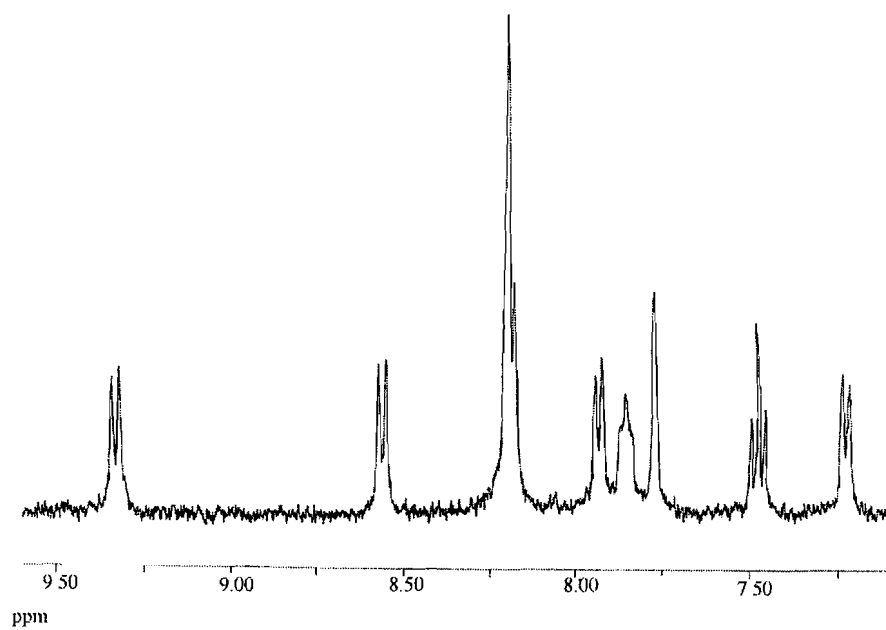
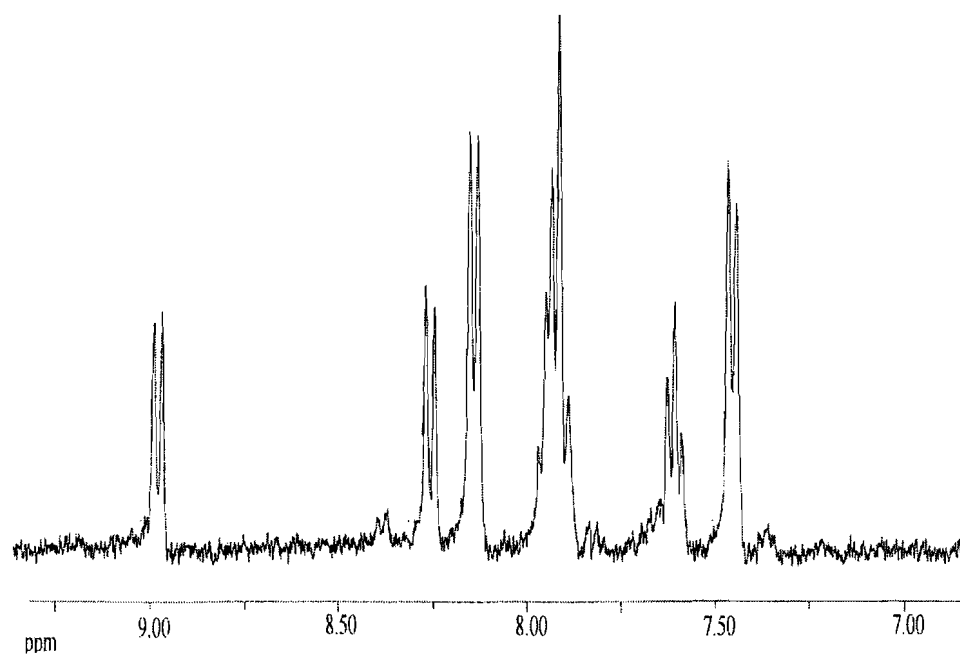
A.1.9. Perclorato de 4'-hidroxiflavílio

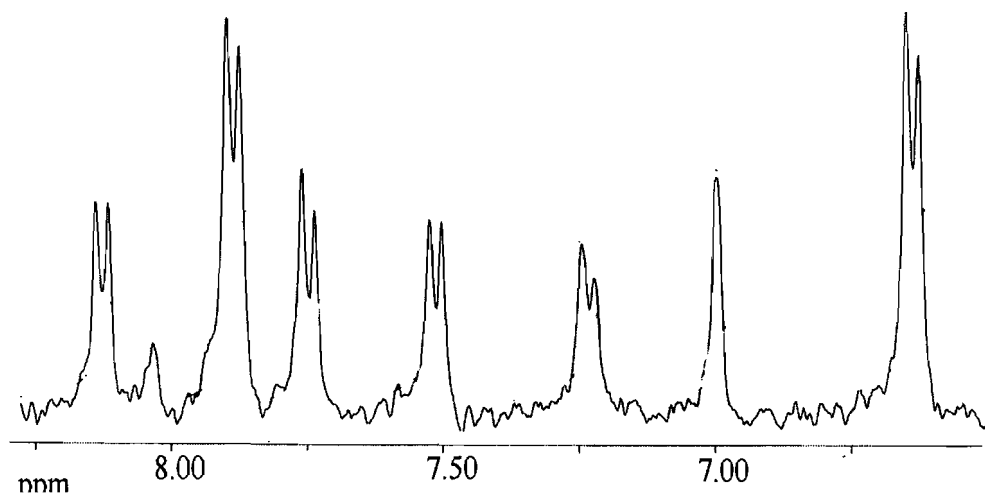
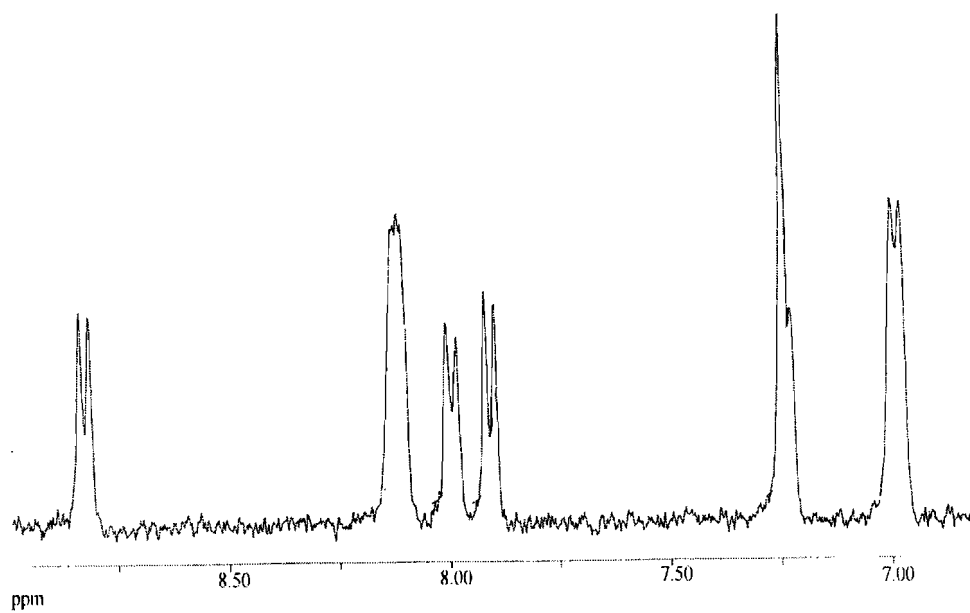


A.1.10. Perclorato de 4'-metilflavílio

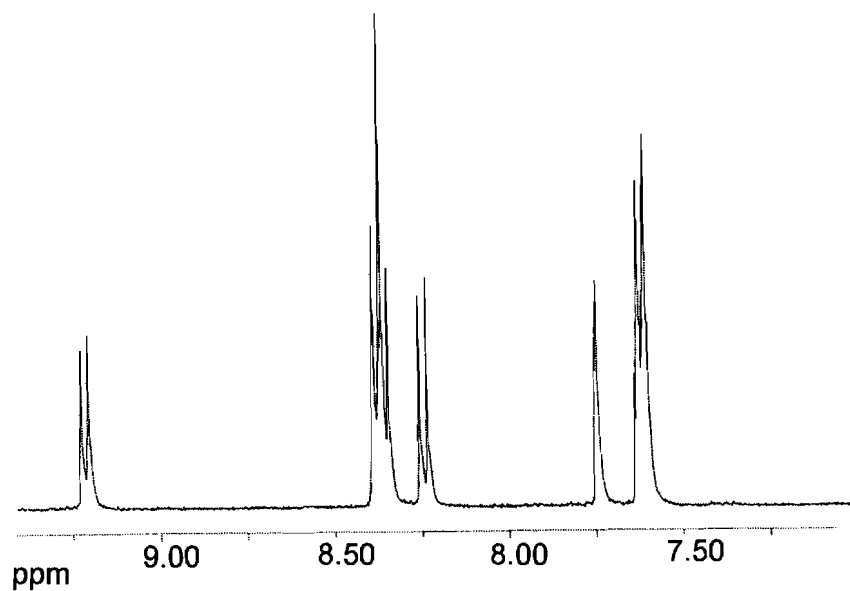


A.1.11. Perclorato de 4'-metoxiflavílio**A.1.12. Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio**

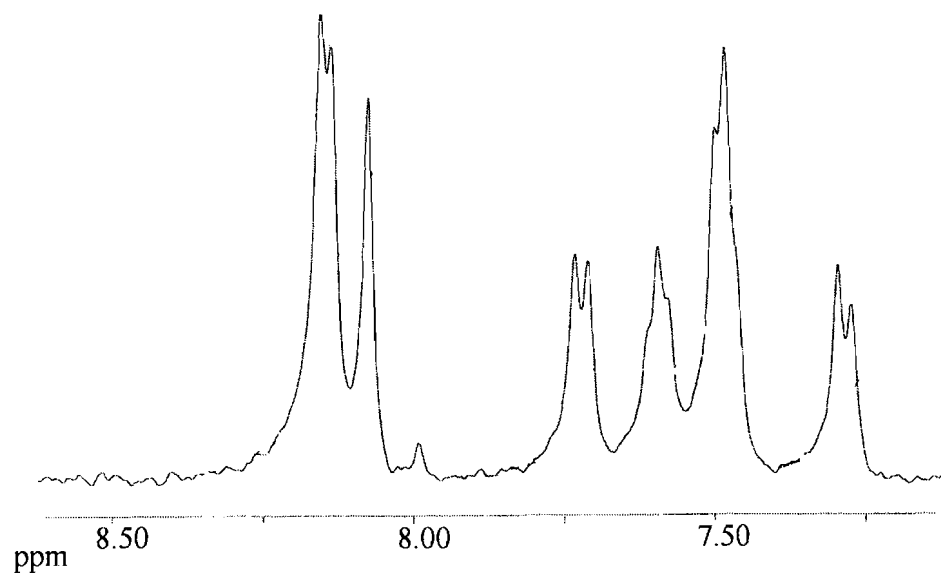
A.1.13. Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio**A.1.14. Tetrafluoroborato de 4'-aminoflavílio**

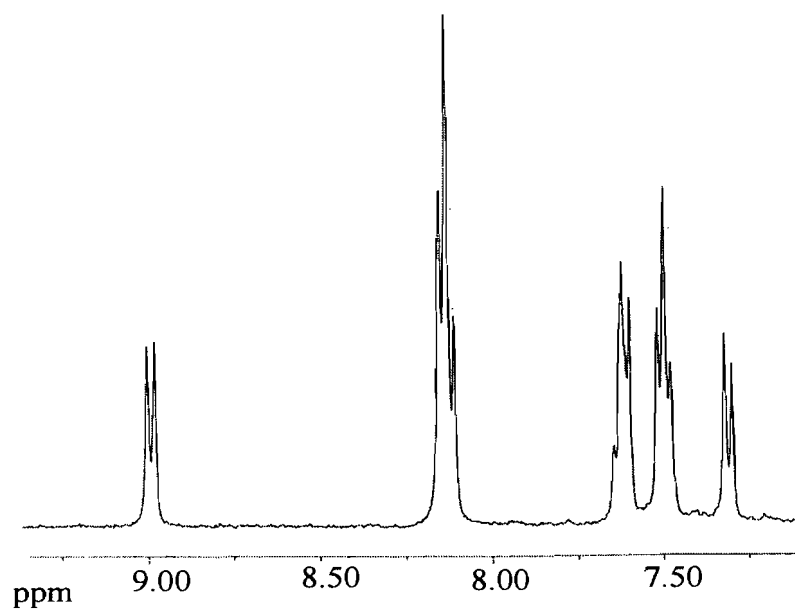
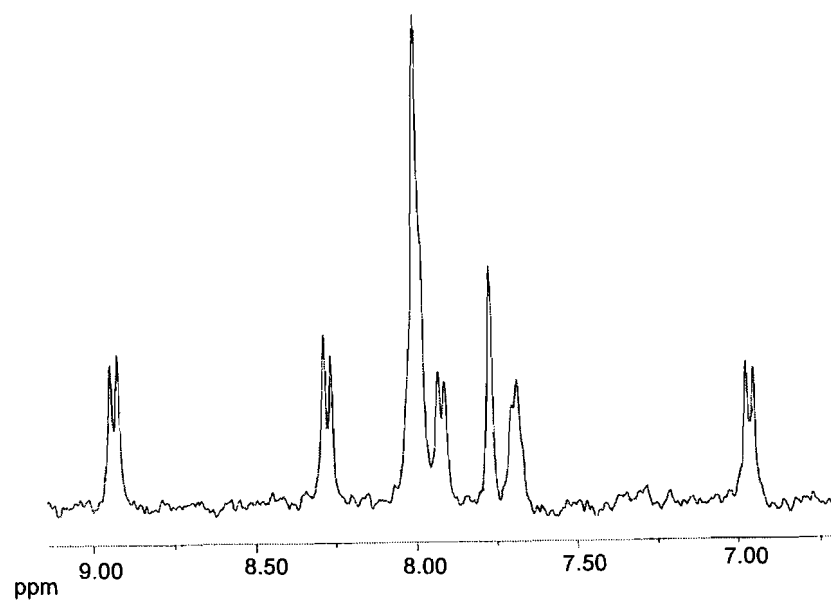
A.1.15. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxi-flavílio**A.1.16. Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxi-flavílio**

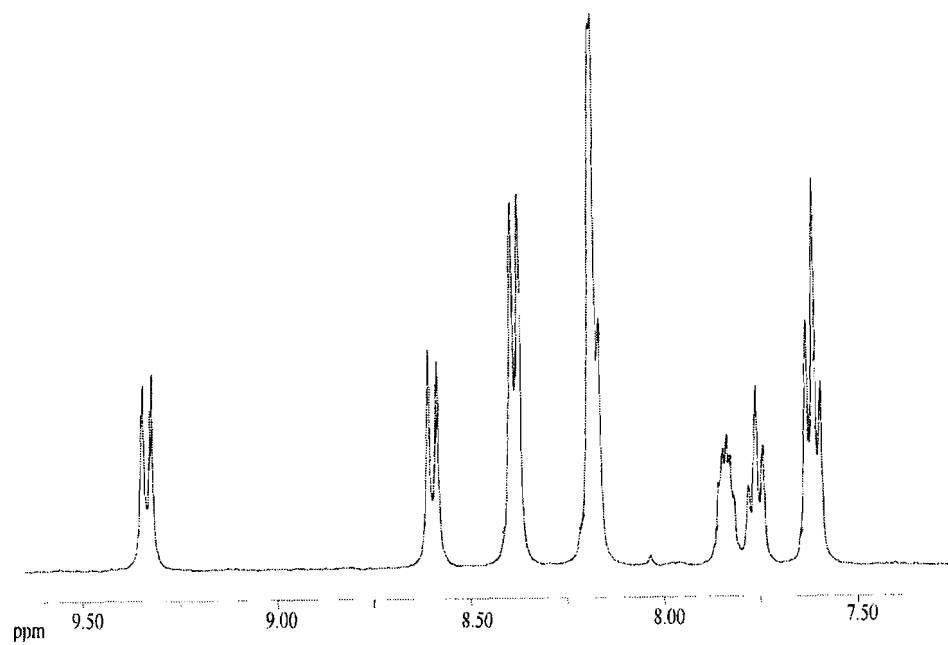
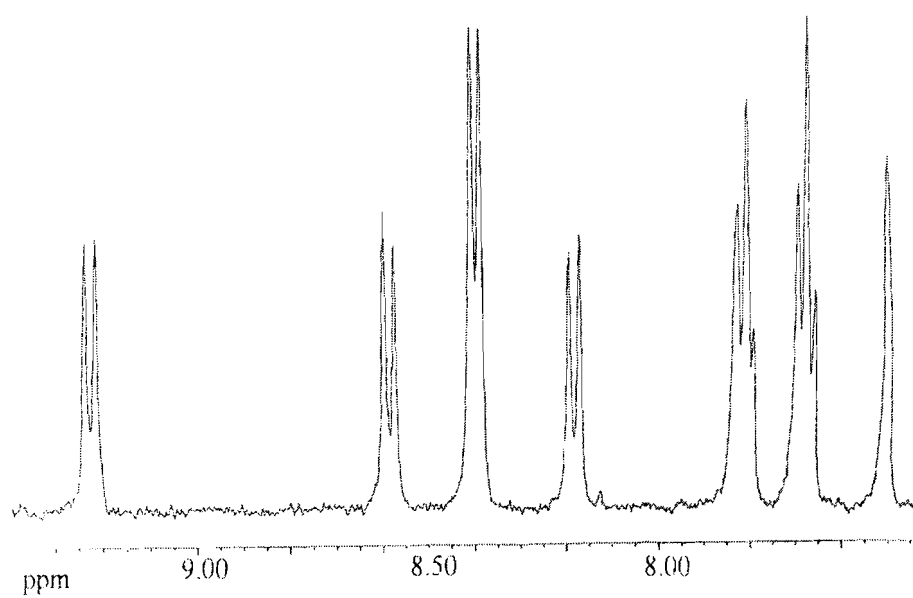
A.1.17. Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio

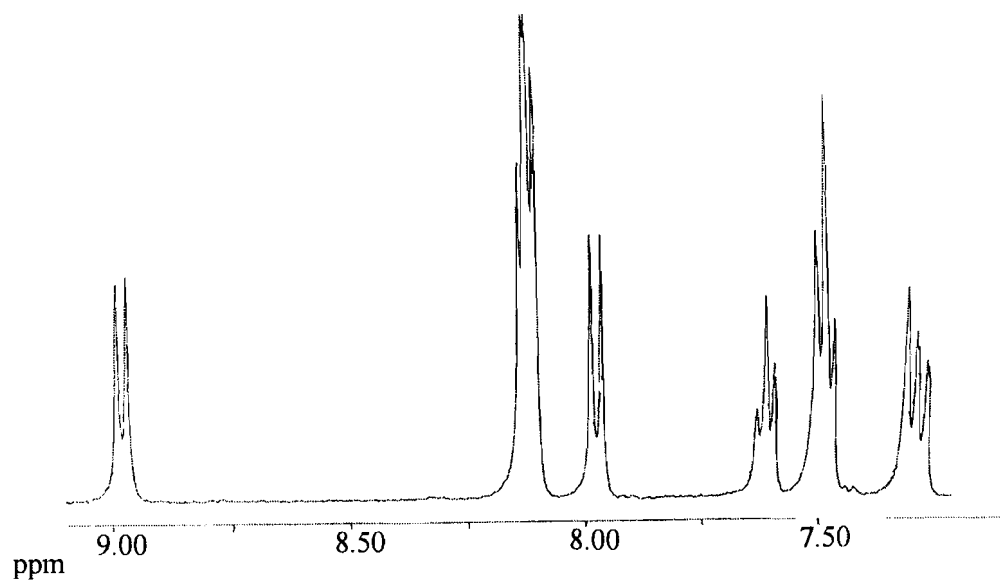
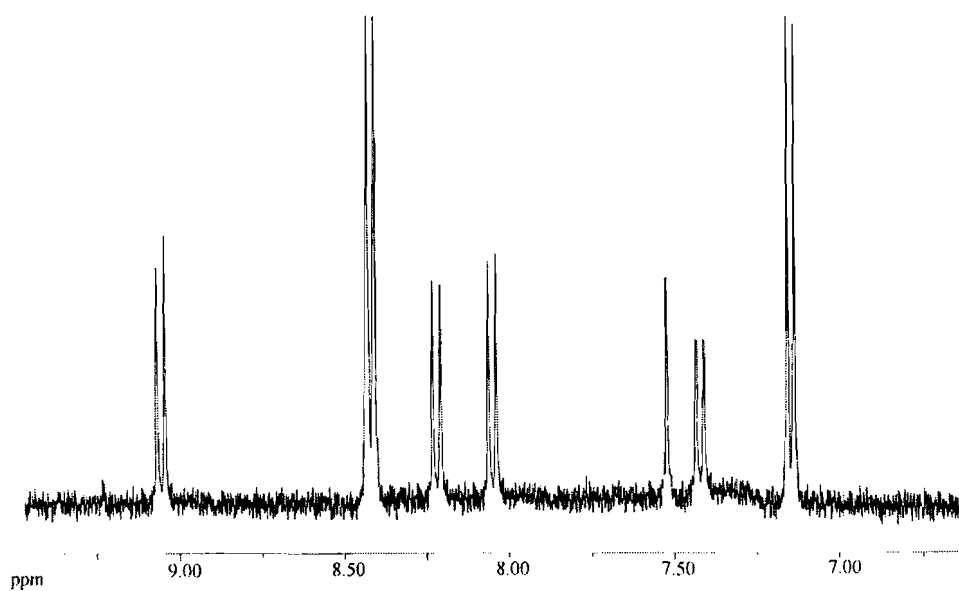


A.1.18. Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metilflavílio



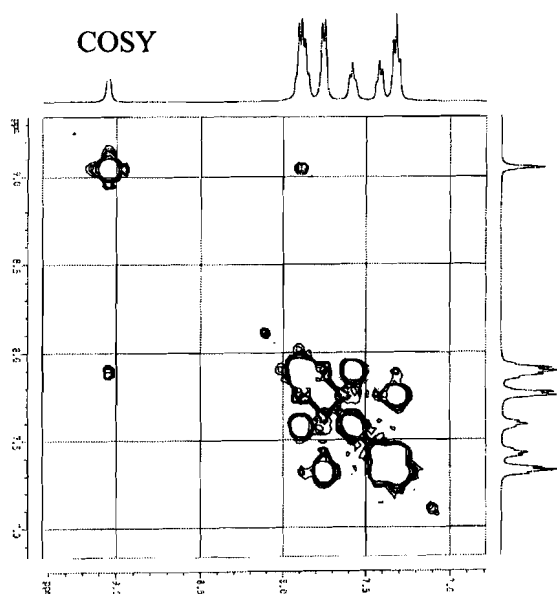
A.1.19. Cloreto de 7,8-dihidroxiavílio**A.1.20. Perclorato de 3',4'-dihidroxiavílio**

A.1.21. Perclorato de flavílio**A.1.22. Cloreto de 6-hidroxiavilium**

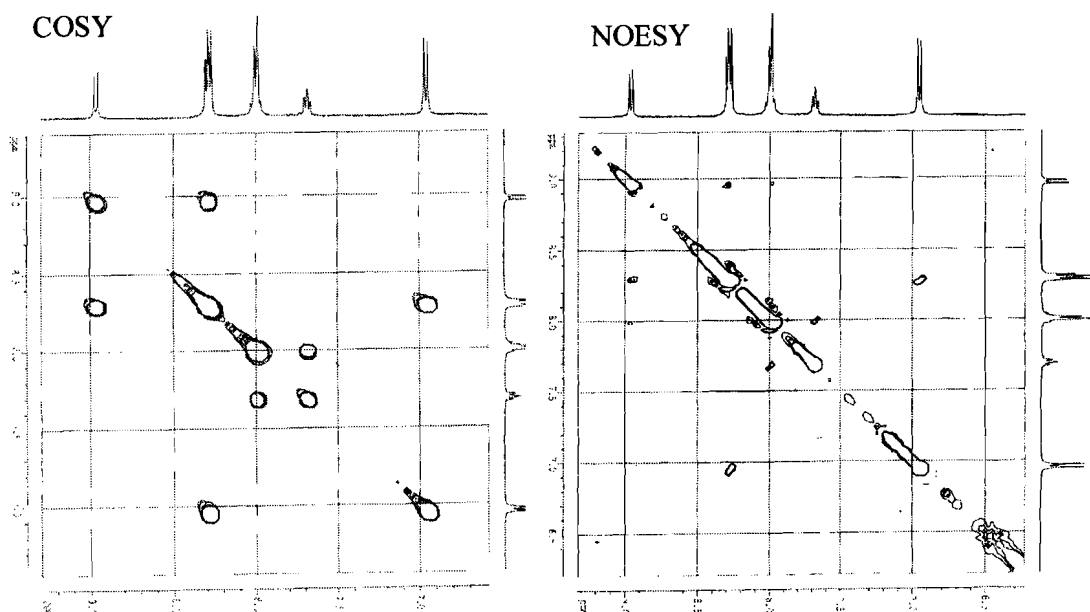
A.1.23. Cloreto de 7-hidroxiavílio**A.1.24. Cloreto de 7,4'-dihidroxiavílio**

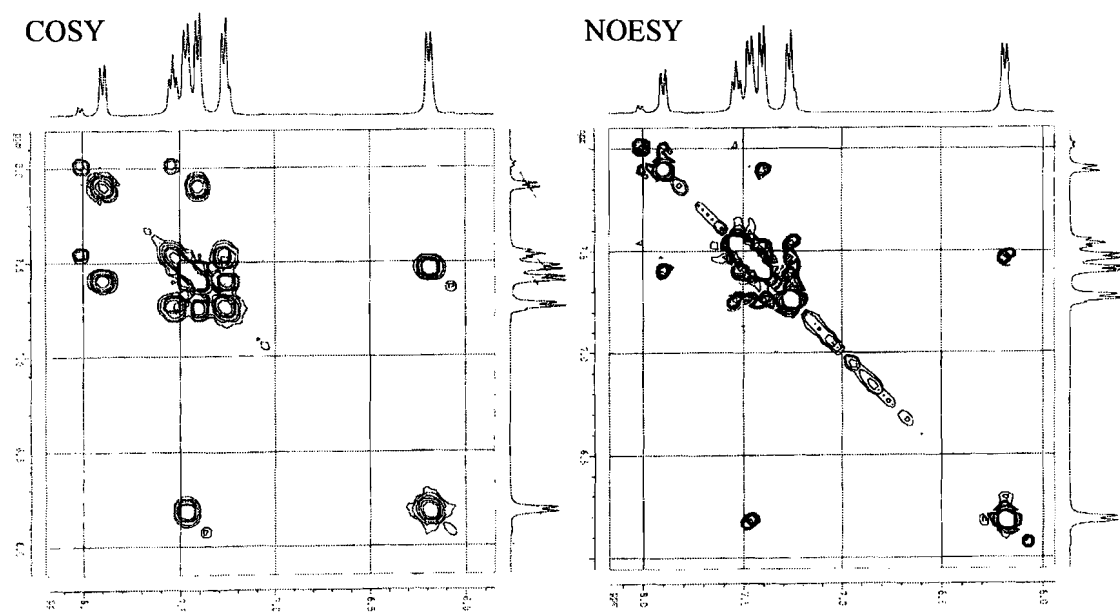
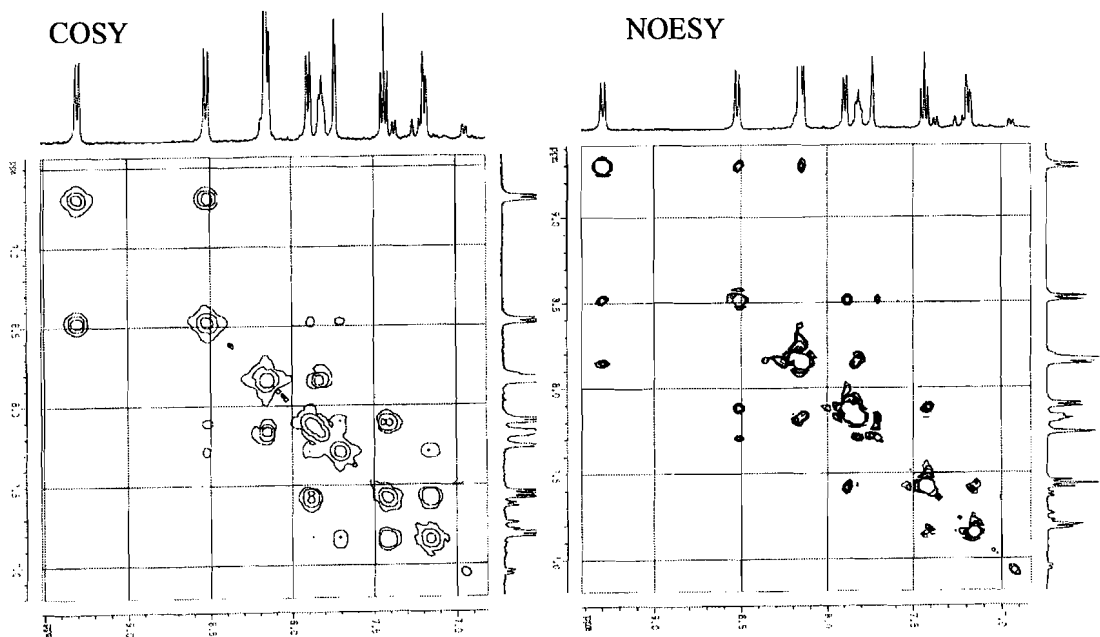
A.2. Espectros COSY e NOESY dos cátions flavílio estudados no Capítulo 1.

A.2.1. Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio

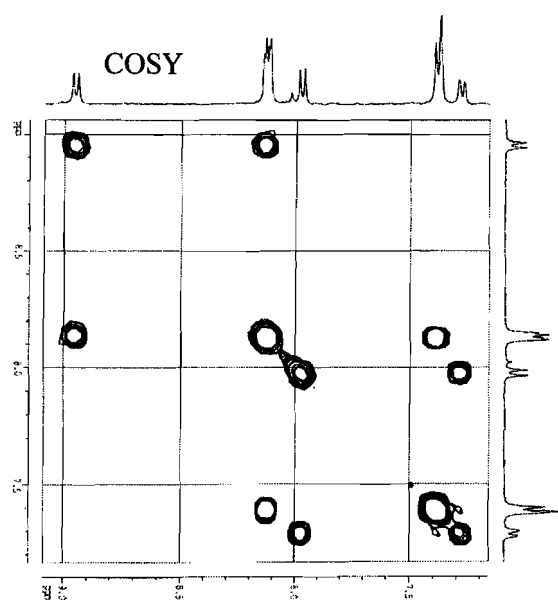


A.2.2. Perclorato de 4'-hidroxiflavílio

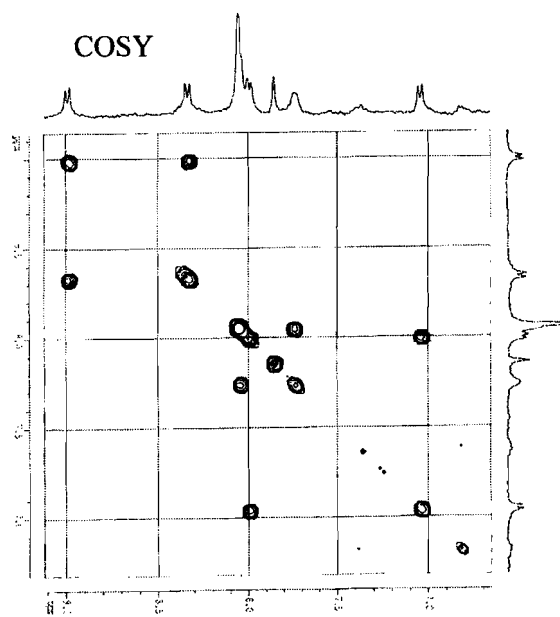


A.2.3. Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio**A.2.4. Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio**

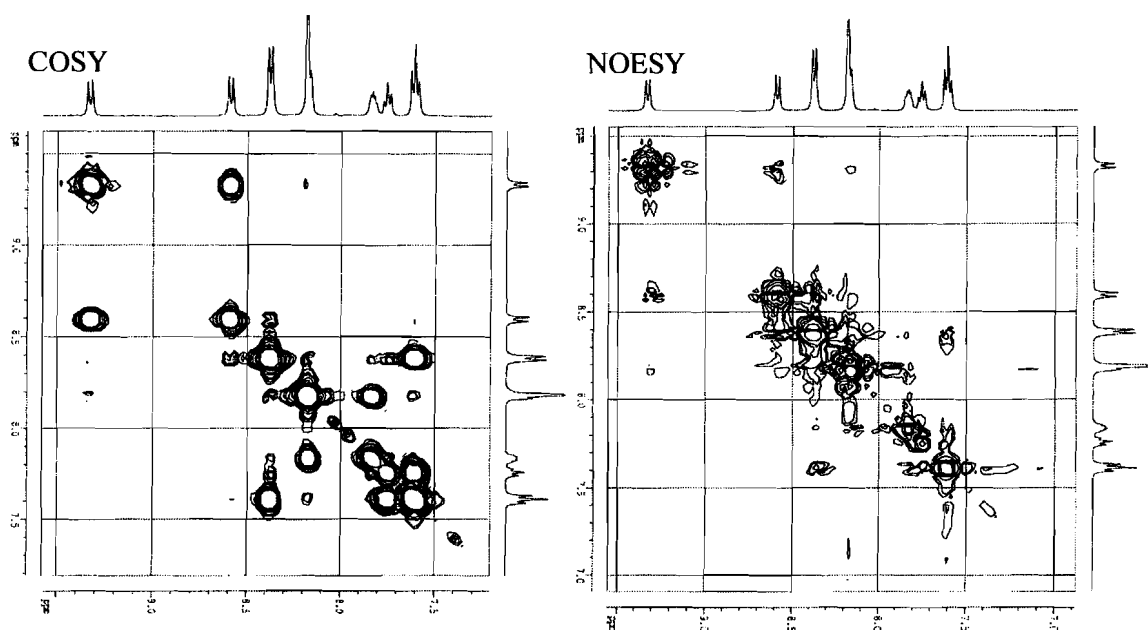
A.2.5. Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio



A.2.6. Perclorato de 3',4'-dihidroxi-flavílio

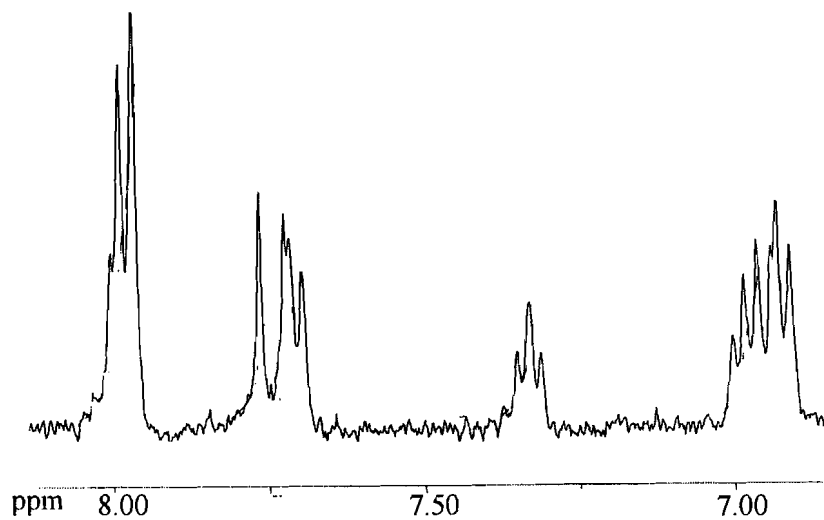


A.2.7. Perclorato de flavílio

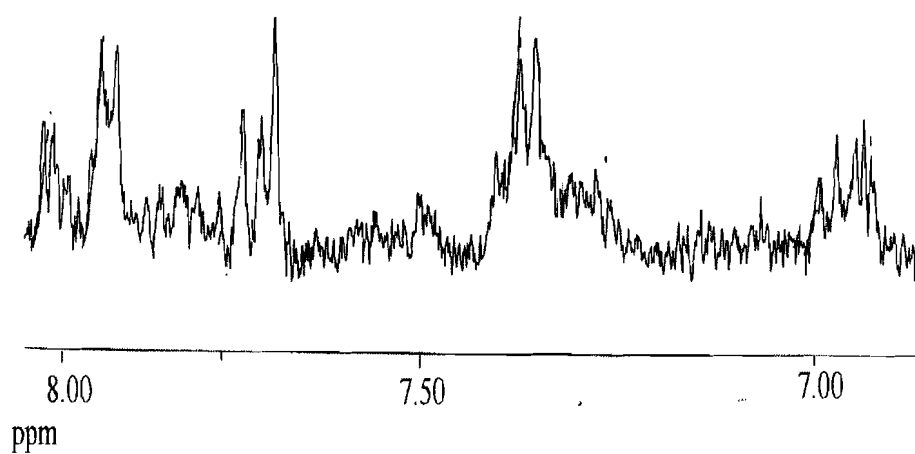


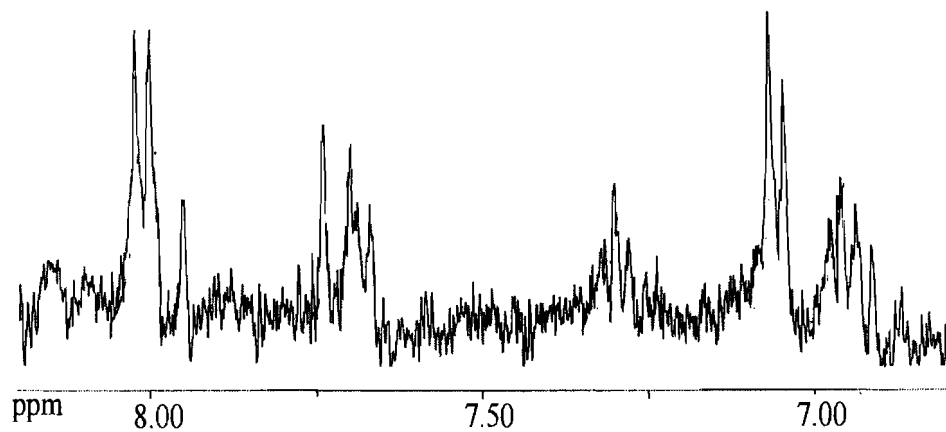
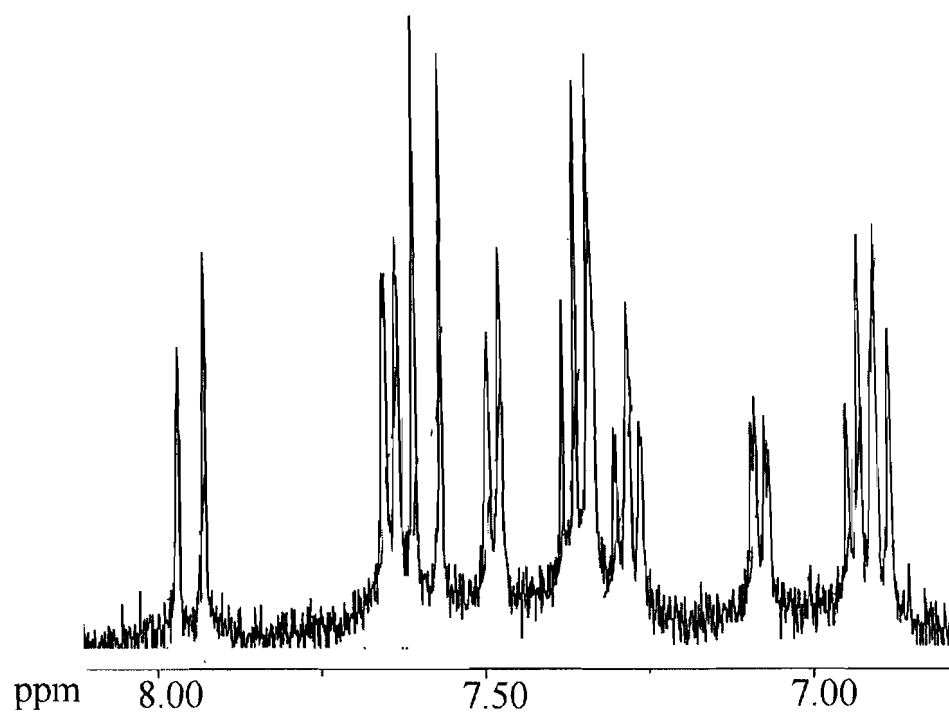
A.3. Espectros de ^1H RMN das chalconas *trans* estudadas no Capítulo 6.

A.3.1. Perclorato de 4'-hidroxiflavílio (D_2O , após 72h a $\text{pD}=7.3$)

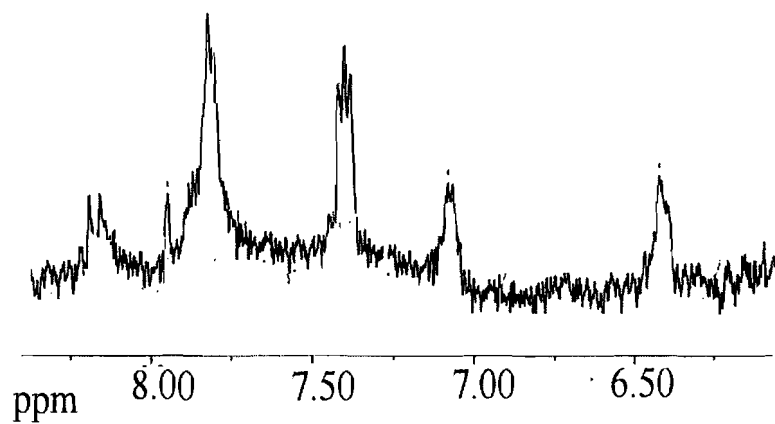


A.3.2. Perclorato de 4'-metilflavílio (D_2O , após 96h a $\text{pD}=5.5$)

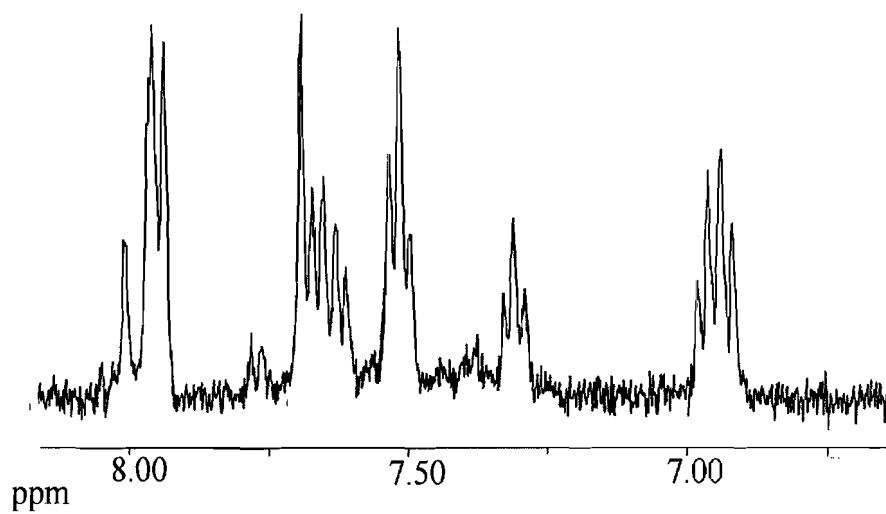


A.3.3. Perclorato de 4'-metoxiflavílio (D_2O , após 48h a $pD=4.6$)**A.3.4. Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio (D_2O , $pD=2.5$ após 24h a $pD=11.1$)**

A.3.5. Cloreto de 7,8-dihidroxiavílio (D_2O , pD=4.0 após 6h a pD=12.3)

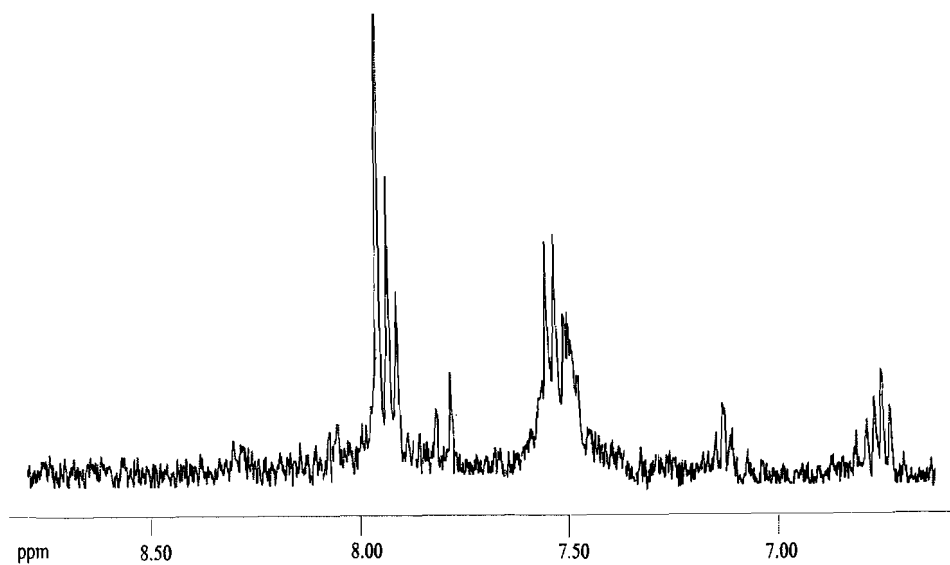
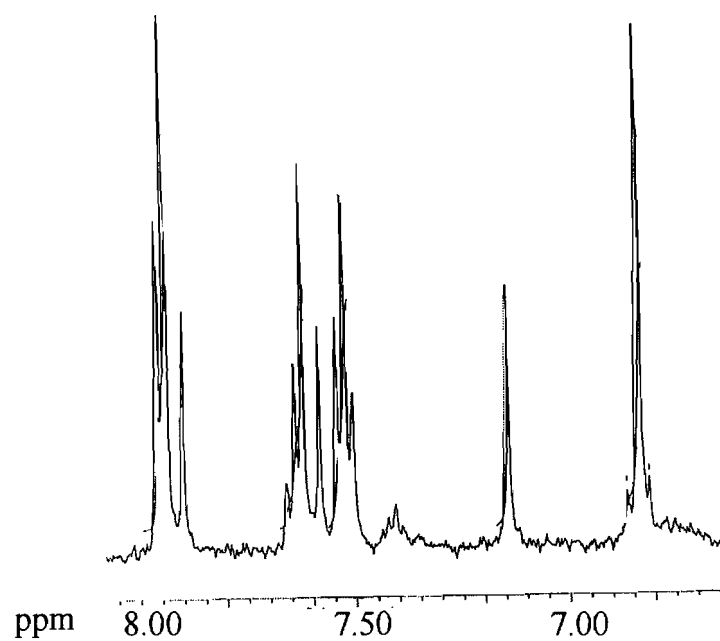


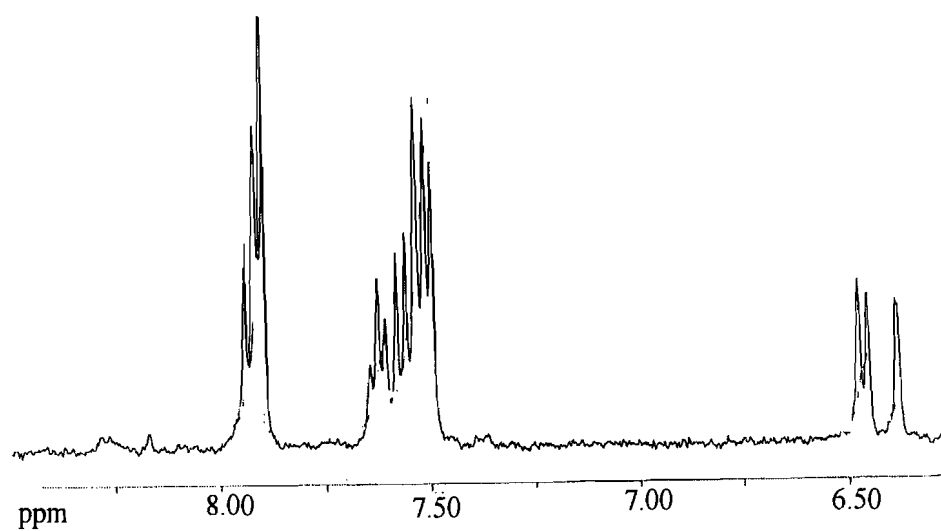
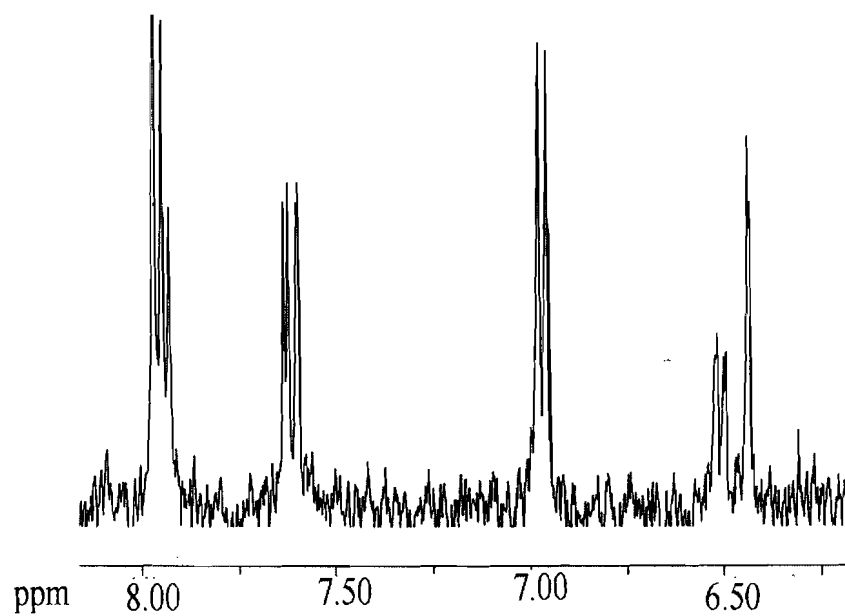
A.3.6. Perclorato de avílio (D_2O , após 12h a 60°C e pD =5.5)

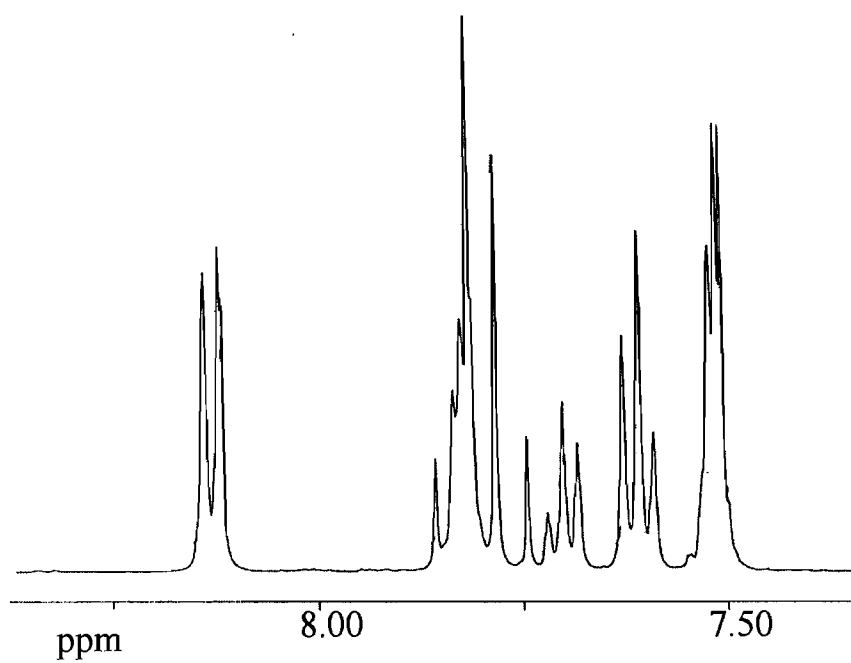


A.3.7. Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio

(D₂O, pD=1.0 após 72h a pD=12.5)

**A.3.8. Cloreto de 6-hidroxi-flavílio (D₂O, após 12h a pD=6.0)**

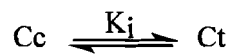
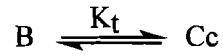
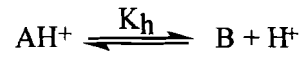
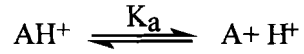
A.3.9. Cloreto de 7-hidroxiavilão (D_2O , pD=4.2 após 6h a pD=11.8)**A.3.10. Cloreto de 7,4'-dihidroxiavilão (D_2O , pD=4.8 após 12h a pD=12.0)**

A.3.11. Benzalacetofenona (CD₃CN)

Apêndice 2

A2.1. Dedução das expressões (3.6) e (4.4) para K'_a .

Considerando os equilíbrios individuais:



Vem:

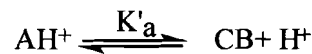
$$K_a = \frac{[A] \times [H^+]}{[AH^+]} \Leftrightarrow [A] = \frac{[AH^+] \times K_a}{[H^+]}$$

$$K_h = \frac{[B] \times [H^+]}{[AH^+]} \Leftrightarrow [B] = \frac{[AH^+] \times K_h}{[H^+]}$$

$$K_t = \frac{[Cc]}{[B]} \Leftrightarrow [Cc] = \frac{[AH^+] \times K_t \times K_h}{[H^+]}$$

$$K_i = \frac{[Ct]}{[Cc]} \Leftrightarrow [Ct] = \frac{[AH^+] \times K_i \times K_t \times K_h}{[H^+]}$$

Para o equilíbrio ácido-base global



onde

$$C_0 = [AH^+] + [A] + [B] + [Cc] + [Ct]$$

a fracção molar de AH^+ (α), é dada por:

$$\alpha = \frac{[AH^+]}{C_0} = \frac{[AH^+]}{[AH^+] + [A] + [B] + [Cc] + [Ct]} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \alpha = \frac{[AH^+]}{[AH^+] \times \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} + \frac{K_h}{[H^+]} + \frac{K_t \times K_h}{[H^+]} + \frac{K_i \times K_t \times K_h}{[H^+]} \right)} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \alpha = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a + K_h + K_h \times K_t + K_h \times K_t \times K_i}$$

de onde se retira

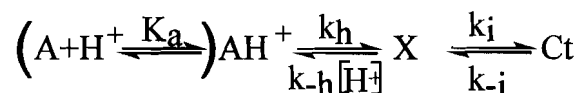
$$K'_a = K_a + K_h + K_h \times K_t + K_h \times K_t \times K_i \quad (3.6)$$

Analogamente se deduz que no caso de não ser possível formar base quinoidal

(A), K'_a é dado simplesmente por:

$$K'_a = K_h + K_h \times K_t + K_h \times K_t \times K_i \quad (4.4)$$

A2.2. Dedução da expressão (3.17) para a constante cinética observada associada ao aparecimento de catião flavílio a partir de chalcona *trans*.



Se ao considerar os equilíbrios anteriores assumirmos que o equilíbrio entre AH^+ e A se dá numa escala de tempo muito inferior à dos outros equilíbrios e por isso não contribui decisivamente para a cinética observada excepto no que respeita a condicionar a fracção de AH^+ que participa nos restantes equilíbrios, tem-se:

$$\frac{d[AH^+]}{dt} = -k_h \times [AH^+] + k_{-h} \times [X] \times [H^+]$$

$$\frac{d[X]}{dt} = k_h \times [AH^+] + k_{-i} \times [Ct] - (k_i + k_{-h} \times [H^+]) \times [X]$$

$$\frac{d[Ct]}{dt} = k_i \times [X] - k_{-i} \times [Ct]$$

Considerando a hipótese de estado estacionário para a espécie X , vem:

$$\frac{d[X]}{dt} = 0 \Leftrightarrow [X] = \frac{k_h \times [AH^+] + k_{-i} \times [Ct]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]}$$

Substituindo na expressão da variação de AH^+ , vem:

$$\begin{aligned} \frac{d[AH^+]}{dt} &= -k_h \times [AH^+] + k_{-h} \times [H^+] \times \frac{k_h \times [AH^+] + k_{-i} \times [Ct]}{k_i + k_h \times [AH^+]} \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow \frac{d[AH^+]}{dt} &= -[AH^+] \times \left(k_h - \frac{k_{-h} \times k_h \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \right) + [Ct] \left(\frac{k_{-h} \times k_{-i} \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \right) \end{aligned}$$

Portanto quando é seguido o aparecimento de AH^+ à custa do desaparecimento de Ct, tem-se:

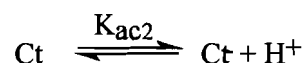
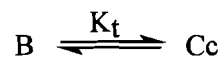
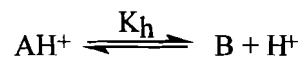
$$k_{obs} = \left(k_h - \frac{k_{-h} \times k_h \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \right) + \left(\frac{k_{-h} \times k_{-i} \times [H^+]}{k_i + k_{-h} \times [H^+]} \right)$$

Não esquecendo que o AH^+ disponível para este equilíbrio depende do equilíbrio mais rápido que AH^+ estabeleceu com A, vem:

$$\begin{aligned} k_{obs} &= \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \left(k_h - \frac{k_{-h} k_h [H^+]}{k_i + k_{-h} [H^+]} \right) + \left(\frac{k_{-h} k_{-i} [H^+]}{k_i + k_{-h} [H^+]} \right) \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow k_{obs} &= \frac{\frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} k_h k_i + \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} k_h k_{-h} [H^+] - \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} k_h k_{-h} [H^+] + k_{-h} k_{-i} [H^+]}{k_i + k_{-h} [H^+]} \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow k_{obs} &= \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \times \frac{k_h k_i}{k_i + k_{-h} [H^+]} + \frac{k_{-h} k_{-i} [H^+]}{k_i + k_{-h} [H^+]} \quad (3.17) \end{aligned}$$

A2.3. Dedução das expressões (4.15), (4.20) e (4.22) para fracção molar de AH_2^{2+} .

Considerando os equilíbrios individuais:



Vem:

$$K_{ac} = \frac{[AH^+] \times [H^+]}{[AH_2^{2+}]} \Leftrightarrow [AH^+] = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_{ac}}{[H^+]}$$

$$K_h = \frac{[B] \times [H^+]}{[AH^+]} \Leftrightarrow [B] = \frac{[AH^+] \times K_h}{[H^+]} = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^2}$$

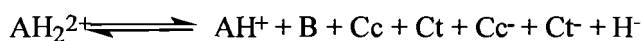
$$K_t = \frac{[Cc]}{[B]} \Leftrightarrow [Cc] = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_t \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^2}$$

$$K_i = \frac{[Ct]}{[Cc]} \Leftrightarrow [Ct] = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_i \times K_t \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^2}$$

$$K_{ac1} = \frac{[Cc^-] \times [H^+]}{[Cc]} \Leftrightarrow [Cc^-] = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_{ac1} \times K_i \times K_t \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^3}$$

$$K_{i^-} = \frac{[Ct^-]}{[Cc^-]} \Leftrightarrow [Ct^-] = \frac{[AH_2^{2+}] \times K_{i^-} \times K_{ac1} \times K_i \times K_t \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^3}$$

Para o equilíbrio global



onde

$$C_0 = [AH_2^{2+}] + [AH^+] + [B] + [Cc] + [Ct] + [Cc^-] + [Ct^-]$$

a fracção molar de AH_2^{2+} (α), é dada por:

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{C_0} = \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] + [AH^+] + [B] + [Cc] + [Ct] + [Cc^-] + [Ct^-]} \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] \left(1 + \frac{K_{ac}}{[H^+]} + \frac{K_h K_{ac}}{[H^+]^2} + \frac{K_i K_h K_{ac}}{[H^+]^2} + \frac{K_i K_i K_h K_{ac}}{[H^+]^2} + \frac{K_{ac1} K_i K_h K_{ac}}{[H^+]^3} + \frac{K_{i-} K_{ac1} K_i K_h K_{ac}}{[H^+]^3} \right)} \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{ac}[H^+]^2 + K_{ac}(K_h + K_h K_i + K_h K_i K_i)[H^+] + K_{ac}(K_{ac1} K_i K_h + K_{i-} K_{ac1} K_i K_h)} \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{ac}[H^+]^2 + K_{ac}(K_h + K_h K_i + K_h K_i K_i)[H^+] + K_{ac}(K_h + K_h K_i + K_h K_i K_i) \left(\frac{K_i K_{ac1} + K_i K_{ac1} K_{i-}}{1 + K_i + K_i K_i} \right)} \quad (4.15) \end{aligned}$$

Do mesmo modo se deduz que para o pseudo-equilíbrio:



onde

$$C_0 = [AH_2^{2+}] + [AH^+] + [Cc^-]$$

a fracção molar de AH_2^{2+} (α), é dada por:

$$\begin{aligned}
 \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{C_0} = \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] + [AH^+] + [Cc^-]} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] \times \left(1 + \frac{K_{ac}}{[H^+]} + \frac{K_h \times K_{ac}}{[H^+]^2} + \frac{K_{ac1} \times K_l \times K_h \times K_{ac}}{[H^+]^3} \right)} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{ac} \times [H^+]^2 + K_{ac} \times (K_{ac1} \times K)} \quad (4.20)
 \end{aligned}$$

Quanto ao equilíbrio final:



onde

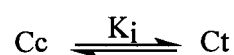
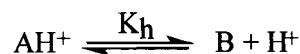
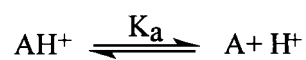
$$C_0 = [AH_2^{2+}] + [AH^+] + [Cc^-] + [Ct^-]$$

a fracção molar de AH_2^{2+} (α), é dada por:

$$\begin{aligned}
 \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{C_0} = \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] + [AH^+] + [Cc^-] + [Ct^-]} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[AH_2^{2+}]}{[AH_2^{2+}] \left(1 + \frac{K_{ac}}{[H^+]} + \frac{K_{ac1} K_l K_h K_{ac}}{[H^+]^3} + \frac{K_{i-} K_{ac1} K_l K_h K_{ac}}{[H^+]^3} \right)} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{ac} [H^+]^2 + K_{ac} (K_{ac1} K_l K_h + K_{i-} K_{ac1} K_l K_h)} \Leftrightarrow \\
 \Leftrightarrow \alpha &= \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + K_{ac} [H^+]^2 + K_{ac} (K_{ac1} K_l K_h) (1 + K_{i-})} \quad (4.22)
 \end{aligned}$$

A2.4. Dedução da expressão (4.23) para fracção molar de Ct.

Considerando os equilíbrios individuais:



Para o equilíbrio ácido-base global



onde

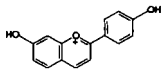
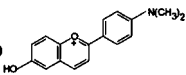
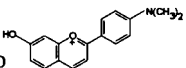
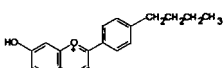
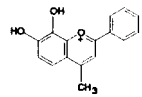
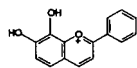
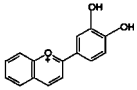
$$C_0 = [AH^+] + [A] + [B] + [Cc] + [Ct]$$

a fracção molar de Ct a um dado pH em que não exista AH^+ em equilíbrio, é dada por:

$$\begin{aligned} X_{Ct} &= \frac{[Ct]}{C_0} = \frac{[Ct]}{[A] + [B] + [Cc] + [Ct]} \Leftrightarrow \\ &= \frac{[AH^+] \times K_i \times K_t \times K_h}{[AH^+] \times \left(\frac{K_a}{[H^+]} + \frac{K_h}{[H^+]} + \frac{K_t \times K_h}{[H^+]} + \frac{K_i \times K_t \times K_h}{[H^+]} \right)} \Leftrightarrow \\ &= \frac{K_h \times K_t \times K_i}{K_a + K_h + K_h \times K_t + K_h \times K_t \times K_i} = \frac{K_h \times K_t \times K_i}{K'_a} \quad (4.23) \end{aligned}$$

Apêndice 3

Nome	Estrutura	$\lambda_{\text{máx.}}$ (nm) (H ₂ O, pH=1)	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	pK' _a	E _a <i>cis-trans</i> (kJmol ⁻¹)
Cloreto de 7-hidroxi-4-metilflavílio		410	19875	4.30	-
Cloreto de 5,7-dihidroxi-4-metilflavílio		379	17960	4.35	-
Perclorato de 7,2',4',6'-tetrahidroxi-4-metilflavílio		446	23450	4.65	-
Tetrafluoroborato de 3-metilflavílio		380 (pH=0)	13925	1.20	-
Cloreto de 4'-hidroxi-3-metilflavílio		425	29800	2.10	-
Cloreto de 7, 4'-dihidroxi-3-metilflavílio		427	33800	3.60	-
Perclorato de 3-metil-4'-metoxiflavílio		425	28000	1.95	-
Tetrafluoroborato de 7-hidroxi-3-metil-4'-metoxiflavílio		447	27250	3.35	-
Perclorato de Flavílio		394 (pH=0)	34000	1.64	89
Perclorato de 4'-hidroxiflavílio		435	41000	1.90	129
Perclorato de 4'-metilflavílio		407 (pH=0)	36500	1.55	87
Perclorato de 4'-metoxiflavílio		435 (pH=0)	42000	1.0	93
Tetrafluoroborato de 4'-(N,N-dimetilamino)flavílio		522	45000	4.95	85
Tetrafluoroborato de 3'-hidroxiflavílio		385	19100	1.80	89
Cloreto de 6-hidroxiflavílio		530	20000	3.00	87
Cloreto de 7-hidroxiflavílio		435	36800	2.7	38

Nome	Estrutura	$\lambda_{\text{máx.}}$ (nm) (H ₂ O, pH=1)	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	pK' _a	E _a <i>cis-trans</i> (kJmol ⁻¹)
Cloreto de 7,4'-dihidroxi-flavílio		456	42500	3.05	65
Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-6-hidroxi-flavílio		530	42500	6.50	-
Perclorato de 4'-(N,N-dimetilamino)-7-hidroxi-flavílio		455	32000	2.80	-
Tetrafluoroborato de 4'-butil-7-hidroxi-flavílio		438	27000	2.10	-
Cloreto de 7,8-dihidroxi-4-metil-flavílio		435	20000	4.00	-
Cloreto de 7,8-dihidroxi-flavílio		395	15000	2.3	37
Perclorato de 3',4'-dihidroxi-flavílio		455	11800	3.30	-

Publicações a que esta tese deu origem

Publicações internacionais:

M. Maestri, F. Pina, A. Roque, P. Passaniti «Light and pH Switching between the various forms of 4'- Methylflavylium cation», *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **2000**, 5585, 1-8.

M. J. Melo, S. Moura, A. Roque, M. Maestri, F. Pina «Photochemistry of luteolidin. Write-Lock-Read-Unlock-Erase Cycles with a natural compound», *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **2000**, 135, 33-39.

A. Roque, F. Pina, S. Alves, R. Ballardini, M. Maestri, V. Balzani, «Micelles Effect on the Write-Lock-Read-Unlock-Erase Cycles of 4'-Hydroxyflavylium Ion», *J. Mater. Chem.*, **1999**, 9, 2265-69.

F. Pina, A. Roque, M. J. Melo, M. Maestri, L. Belladeli, V. Balzani, «Multistate/Multifunctional Molecular-Level Systems. Light and pH Switching between the Ten Forms of a Synthetic Flavylium salt », *Chem. Eur. J.*, **1998**, 4, 1182-89.

F. Pina, A. Roque, «Ion-pairing Co-pigmentation Effects on 4'7-Dihydroxyflavylium Studied by Pulse Light Jumps», *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **1998**, 114, 59-64.

Publicações nacionais:

M. J. Melo, A. Roque, F. Pina «Sistemas Fotocrómicos para Escrever-Ler-Apagar. Um futuro Colorido para a Memória?», *Química-Boletim da S.P.Q.*, **1999**, 74, 41.